

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Fibrosis pulmonares por drogas modelo con bleomicina

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Carlos María San Román Terán

Madrid, 2015

Carlos María San Román Terán

TP
1980
126



* 5 3 0 9 8 5 3 9 2 X *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x - 58 - 00 , 1 - 0 - 2

FIBROSIS PULMONARES POR DROGAS. MODELO CON BLEOMICINA

Departamento de Medicina Interna
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1980



BIBLIOTECA

© Carlos María San Román Terán
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1980
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-26905-1980

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

FIBROSIS PULMONARES POR DROGAS

MODELO CON BLEOMICINA

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR: CARLOS M DE SAN ROMAN TERAN

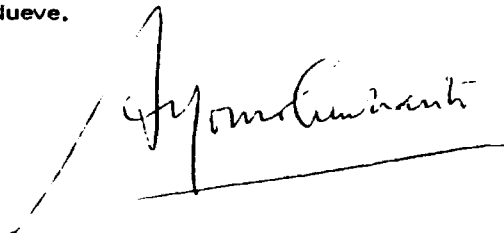
DIRIGIDA POR: PROF DR D ALFONSO MERCHANT IGLESIAS

MARZO 1979

EL PROFESOR Dr. D. ALFONSO MERCHANT
IGLESIAS, PROFESOR ADJUNTO DE PATOLO-
GIA MEDICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
DE MADRID, UNIVERSIDAD AUTONOMA.

CERTIFICO: Que D. CARLOS M^º de SAN RO-
MAN TERAN ha realizado bajo
mi dirección su tesis doctoral -
sobre "Fibrosis Pulmonares por
Drogas. - Modelo con Bleomicina",
para aspirar al grado de Doctor
en Medicina y Cirugía.

Madrid, a Uno de Febrero de Mil Novecientos Se-
tenta y Nueve.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Alfonso Merchante', is written over a horizontal line. A diagonal line extends from the bottom left of the signature.

Fdo.: Prof. Merchante Iglesias.

PROLOGO

"Nuestras ideas son sólo instrumentos intelectuales que utilizamos para adentrarnos en los fenómenos; debemos cambiarles cuando ya han cumplido su función, de la misma manera que cambiamos un bisturí como que hemos usado durante mucho tiempo".

Claude Bernard.

Dentro de la búsqueda de la PROFESIONALIDAD, objetivo básico de mi quehacer diario como médico, siempre me ha preocupado la presencia del fantasma de la iatrogenia en todos los aspectos de la actividad clínica. Quizás por el concepto incrustado muy dentro de mi mente desde antes de terminar los estudios del "Primum non nocere".

Todos conocemos drogas que llegaron a su utilización clínica levantando grandes esperanzas de salvación o de mejoría para determinados padecimientos y que al correr del tiempo provocaron catástrofes colectivas o individuales que llevaron a la desesperación a propios y extraños. Quizás un esfuerzo más grande en el estudio detallado hubiera evitado los desastres y hubiera conducido a su aplicación en otros campos donde las esperanzas se siguieran de resultados, incluso brillantes.

Cuando hace ya años comenzábamos el estudio de la lesión pulmonar producida por las drogas empleadas en oncología y específicamente de la Bleomicina (BLM) nuestra intención fué doble. En primer lugar queríamos profundizar en el conocimiento de las fibrosis pulmonares iatrogénicas, seguir el desarrollo de los acontecimientos fisiopatogénicos e intentar buscar el eslabón débil para romperlo. Pero en segundo lugar perseguíamos otro objetivo distinto, y no menos importante, que suponía el penetrar en un laboratorio de investigación básica. De este modo añadíamos al clínico, el nuevo aspecto

to riguroso y de profundidad de búsqueda que existe en los equipos de investigación básica y que quizás remodelan las vías de enfoque de los que preferentemente hacemos clínica.

Es costumbre, consagrada por el uso, el hablar en primera persona del plural en vez de utilizar el "yo" en las actividades académicas y en la exposición de temas; basándose en la educación, o tal vez en la modestia. En mi caso no es así, es estricta justicia a la verdad el utilizar el plural ya que nada hubiera conseguido yo solo. Todo, absolutamente todo, se lo debo a aquellas personas que a lo largo de mi vida me indicaron los caminos a seguir en encrucijadas que a mí me parecieron definitivas e insolubles.

Cuando estoy finalizando este trabajo, objeto de mi Tesis Doctoral, un sin fin de nombres me vienen a la mente haciendo que la sonrisa sea la única expresión de agradecimiento que yo pueda dar y que ellos sepan entender. En primer lugar a mi padre, quien en los años, pocos por desgracia, en que disfruté de su presencia, supo inculcar en mí el afán de buscar detrás de lo que se ve para alcanzar el lado oculto de las cosas y valorarlas con la objetividad y relatividad que las rodean. Sonríe también al recordar a la Fundación "Jiménez Díaz" quien a través de su espíritu y sus personas hizo realidad mi formación de recién postgraduado como residente de Medicina Interna. No quiero dejar de citar a los compañeros de aquella Institución entonces y del Hospital donde trabajo ahora, quienes día a día soportando y ayudando han contribuido de manera insustituible a la terminación de la Tesis Doctoral.

Por último quiero dejar constancia de mi agradecimiento profundo a las tres personas que más han intervenido en mi formación en general y en la producción de este trabajo en particular. Al Profesor Merchante Iglesias quien con su extraordinario hacer clínico y su entrañable cariño introdujo en mí el afán de aprender siempre algo nuevo. Al Doctor Navarro Berastegui que me

ha guiado en el estudio de la morfología pulmonar y a quien debo todo lo que de ello hay en este trabajo. Y al Profesor Serrano Rios quien en sus tres fa cetas de Jefe, Compañero y Amigo ha querido ofrecerme a lo largo del tiempo, dirección, orientación y ayuda. Mía es la responsabilidad de la tesis, - de todos ellos el mérito de haberla llevado a cabo.

-V-

DEDICATORIA :

Cuando siento Amor, Felicidad, Preocu
pación, Decisión o Futuro, hay tres nomu
bres de mujer que indefectiblemente es-
tán presentes : M^a Pilar, Pilar y Gloria;
mi hija, mi mujer y mi madre.

En ellas pienso, también, cuando Trabajo

INDICE

I N D I C E

| | <u>Página</u> |
|--|---------------|
| 1.- Objetivos. HIPOTESIS | 1 |
| 2.- Introducción. Estudio general de la BLEOMICINA : | |
| 2.1. Básico | 4 |
| 2.2. Clínico | 8 |
| 3.- Experiencia personal. MATERIAL Y METODOS : | |
| 3.1. Estudios en humanos | 14 |
| 3.1.1. Criterios de clasificación | 14 |
| 3.1.2. Historias de enfermos | 14 |
| 3.1.3. Técnicas | 19 |
| A) Funcionales | 19 |
| B) Radiológicas | 21 |
| C) Morfológicas | 21 |
| 3.1.4. Análisis estadístico | 22 |
| 3.2. Estudios en animales | 23 |
| 3.2.1. Protocolo experimental | 23 |
| 3.2.2. Técnicas | 25 |
| A) Bioquímicas | 25 |
| B) Morfológicas | 25 |
| 3.2.3. Inmunofluorescencia | 26 |
| 3.2.4. Análisis estadístico | 28 |

Página

4. - RESULTADOS :

| | |
|---|----|
| 4.1. En humanos | 29 |
| 4.1.1. Funcionales | 29 |
| 4.1.2. Radiológicos | 32 |
| 4.1.3. Aspectos morfológicos del pulmón ... | 34 |
| 4.2. En animales | 40 |
| 4.2.1. Bioquímicos | 40 |
| 4.2.2. Clínicos | 57 |
| 4.2.3. Aspectos morfológicos | 57 |
| A) Extrapulmonares | 57 |
| B) Pulmonares | 58 |

5. - DISCUSION :

| | |
|--|-----|
| 5.1. Hallazgos sistémicos | 79 |
| 5.1.1. Datos clínicos | 79 |
| 5.1.2. Morfología sistémica | 82 |
| 5.2. Hallazgos bioquímicos | 85 |
| 5.2.1. Humanos | 85 |
| 5.2.2. Animales de experimentación | 85 |
| 5.3. Hallazgos en patología pulmonar | 95 |
| 5.3.1. Funcionales | 95 |
| 5.3.2. Radiológicos | 98 |
| 5.3.3. Morfológicos | 104 |

| | |
|-------------------------|-----|
| 6. - CONCLUSIONES | 117 |
|-------------------------|-----|

| | |
|-------------------------|-----|
| 7. - BIBLIOGRAFIA | 119 |
|-------------------------|-----|

CAPITULO 1

OBJETIVO

HIPOTESIS

El propósito fundamental de este trabajo, tesis doctoral, es el analizar desde un punto de vista global las Fibrosis Pulmonares Iatrogénicas. Para su desarrollo hemos elegido una droga que en múltiples ocasiones ha sido comunicada en la literatura como productora de fibrosis pulmonar. De esta forma extrapolando los datos obtenidos con ella podremos adentrarnos en el estudio de la fibrosis pulmonar tóxica de una forma general y global.

Para ello se ha dividido el trabajo en varios capítulos. Primero vamos a estudiar los datos que en la literatura se recogen de la droga elegida, tanto desde el punto de vista básico y bioquímico, como desde el punto de vista terapéutico y de las manifestaciones secundarias o tóxicas que han sido descritas a lo largo del tiempo en los tratamientos con Bleomicina.

Hemos dividido la experiencia personal a realizar en dos vertientes: En primer lugar los estudios realizados en enfermos que recibieron Bleomicina para el tratamiento de determinados tumores o linfomas en uno o varios ciclos. Y en segundo lugar el estudio de varias series de animales tratadas con Bleomicina de forma experimental y enfrentadas a una serie control.

En la fase de estudio de humanos, realizada de forma mixta prospectiva y retrospectiva se han valorado fundamentalmente los resultados de técnicas funcionales respiratorias y radiológicas realizadas mientras recibieron la droga. Asimismo en aquellos pacientes que fallecieron durante el tratamiento o después del mismo, y a los que se pudo conseguir la necropsia se realizó el estudio morfológico de las piezas pulmonares.

El estudio en animales de experimentación ha sido totalmente prospectivo y en él se ha insistido en el análisis de aquellos factores que faltaban por recoger del estudio anterior en humanos. Es decir, en la analítica bioquímica y las técnicas morfológicas finas en determinados aspectos de la evolutividad

del tratamiento con Bleomicina. Asimismo se han insistido en aspectos morfológicos de otras zonas extrapulmonares que de la misma manera podrían estar imbricadas en la toxicidad de la droga estudiada.

Todos los estudios experimentales se han basado en miniexperiencias previas con objeto de lograr una unificación de las técnicas que posteriormente íbamos a emplear y que de una manera u otra se describirán en este trabajo. De esta manera obviábamos gran cantidad de errores que posteriormente y de una forma ya irreversible, nos encontraríamos a lo largo de la experimentación.

Asimismo, en la discusión hemos intentado relacionar los datos obtenidos con la Bleomicina con otras drogas que tienen, entre sus efectos tóxicos descritos, la aparición de fibrosis pulmonares o la aparición de cualquier tipo de alteración patológica pulmonar bien de forma aguda o bien en tratamientos largos. De este modo, abordamos el problema de la toxicidad a un grupo determinado de drogas que de forma fundamental en unas, y de forma menos importante en otras, afectan a la función pulmonar de una manera genérica y consecuentemente llevan a los pacientes que la reciben a situaciones de hemotosis no eficaz. Así, al estudiar globalmente a los enfermos y a los animales de experimentación llegamos a conclusiones desde el punto de vista funcional, radiológico, bioquímico y sobre todo morfológico, que al recibir un tratamiento dinámico pueden acercarnos de manera bastante concluyente a esbozar una teoría patogénica de producción de fibrosis pulmonares iatrogénicas y a buscar los eslabones de esa cadena en los que podremos actuar con objeto de romper la secuencia de hechos que conducen a situaciones irreversibles.

Como objetivo menos aparente, pero no por ello menos fundamental, aportamos un modelo experimental de producción de fibrosis por un lado y de producción de angeitis pulmonares por otro, que pueden ser utilizados en el futu

ro para reproducir situaciones clínicas y averiguar las consecuencias de -
las mismas sobre terrenos que en el trabajo presente no hemos abordado.

Un último objetivo, este ya a nivel personal, es el de iniciar la entrada en -
el estudio experimental, entendiendo esta faceta de la medicina como parte -
fundamental en la formación de todo médico, y mucho más de aquellos que nos
dedicamos preferentemente a la clínica, como asegurábamos en el capítulo de
Introducción.

CAPITULO 2

INTRODUCCION

ESTUDIO GENERAL DE LA
BLEOMICINA

2.1. BASICO

Basándose en la extraordinaria capacidad de algunos microorganismos para producir compuestos de variada estructura de forma extensa, y en el extendido término "metabolitos secundarios de los microorganismos" para significar aquellos metabolitos que producidos por un microorganismo que no son utilizados en su crecimiento habitual, Umezawa inicia en 1.951 el estudio de los compuestos metabólicos alterados en orden a aclarar algunos conceptos de la resistencia antibiótica, entonces poco difundidos, y en orden a lograr un preparado con capacidad antitumoral. En 1.953 logra recoger algunos compuestos activos del filtrado de cultivos bacterianos y los prueba contra algunos tumores - animales experimentados (130).

En 1.956 son Umezawa y Maeda (71) quienes al descubrir la Kanamicina y la Phleomicina como antibióticos básicos hidrosolubles dan lugar a posteriores estudios sobre dichos compuestos. La Phleomicina muestra ser un excelente antitumoral en la inhibición del crecimiento del Carcinoma Ehrlich con índices poco usuales por su eficacia, (133) a través de un mecanismo de acción anti DNA inhibiendo su síntesis (128) Sin embargo el estudio clínico de este fármaco es abandonado al mostrarse como productor de una insuficiencia renal por daño glomerular irreversible en perros (55). En aquellos años no se conocía la estructura exacta de este producto por lo que se siguió investigando en orden a conseguir un derivado en el que se obtuvieran las mismas características biológicas evitando la nefrotoxicidad buscándose otros antibióticos del tipo "phleomycin-like", esto es, hidrosolubles básicos, - que fueran quelados por el ion cúprico y tuvieran una absorción máxima alrededor de las 290 nm. y se encontró uno diferente por cromatografía en papel y por estabilidad en medio ácido. Este nuevo producto (52, 54, 134, 136) fué clasificado como un antibiótico derivado del -

Streptomyces verticillus y se comprobó su no toxicidad para el riñón aunque en perros produjo cierto tipo de hepatopatía reversible, se le llamó BLEOMICINA (BLM).

La BLM es producida por el *streptomyces verticillus* y se extrae por aplicación sucesiva de cromatografía con resina de cambio catiónico, cromatografía de carbón, y cromatografía con albúmina (134, 135). El producto obtenido es rico en cobre y constituye una mezcla de todas las BLMs, que pueden ser separadas en las formas individuales mediante una columna de CM-Sephadex con gradiente de formación de amonio o de cloruro sódico (136). De este modo se purificaron las siguientes Bleomicinas: A_1 , A_2 , dimetil A_2 , A_2^1a , A_2^1b , A_2^1c , A_5 , A_6 , B_1 , B_2 y B_4 . Ya que la acción mostró ser similar en cuanto a la actividad en las que se había extraído el cobre se utilizó una preparación correspondiente a una mezcla de la A_2 y B_2 libres de cobre que demostró su utilidad en clínica frente al carcinoma de células escamosas. Sin embargo, existen hoy día por encima de 200 especies de BLM — (131, 132).

La estructura de la BLM empleada en clínica es como se ve en la figura 1 variándose el radical según vemos, ya sea A_2 o B_2 (78).

El mecanismo de acción dividido en varios frentes es fundamentalmente debido a su actividad anti DNA (82, 83) observándose en éste una modificación producida por la BLM en orden a disminuir la temperatura de fusión y por ende a producir escisiones en el DNA. Por otro lado se ha estudiado su acción frente a la actividad de diversos sistemas enzimáticos que están de alguna manera envueltos en el proceso de síntesis de ácidos nucleicos habiéndose observado que existe una actividad inhibitoria competitiva eficaz para las ANasas I y II, si bien no

ESTRUCTURA DE LA BLEOMICINA

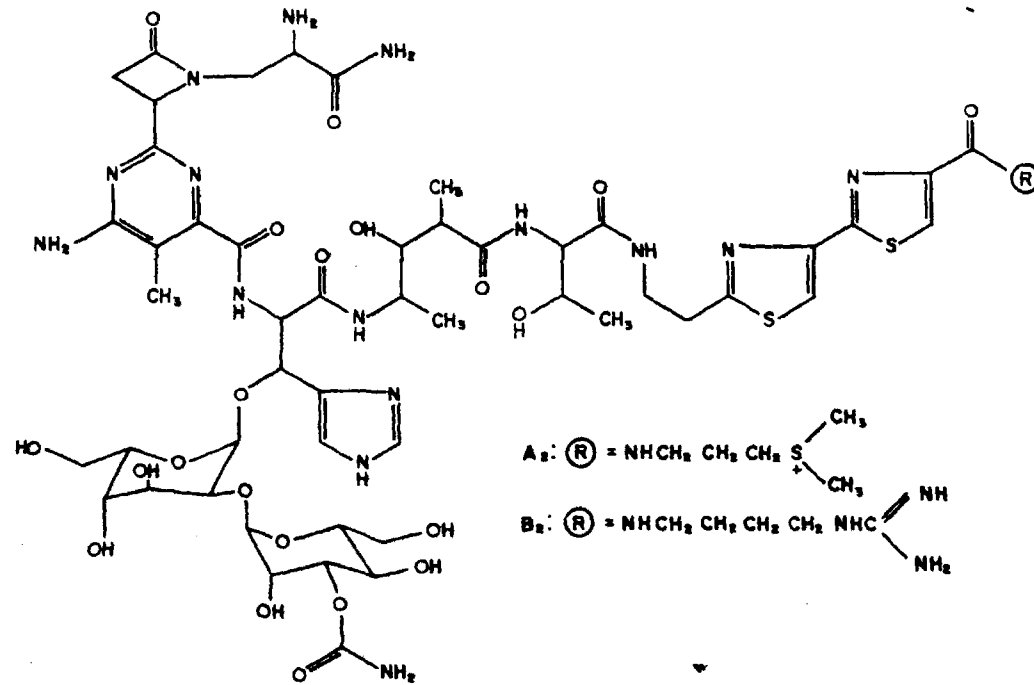


Figura 1

por causa directa sobre ellas, sino por interferencia en su afinidad - por el DNA modificado por la BLM. Las actividades RNasa A, B y T₁, así como las fosfodiesterasas I y II no son, sin embargo, modificadas por la BLM (79). No obstante, se ha encontrado actividad inhibitoria no competitiva, por el mecanismo indirecto antes citado, en varios sistemas DNA y RNA polimerasas y sobre todo en el sistema DNA dependiente aislado de los virus oncogénicos e incluso se ha comunicado, - por mecanismos no bien identificados, una capacidad inhibitoria en - sistemas enzimáticos del fago T₄ y del E. Coli (78).

Todos estos datos han llevado al estudio de la actividad "in vitro" de la BLM en cultivos celulares y de su actividad e interferencia en la - cinética celular observando su acción sobre la supervivencia de grupos celulares situados en las distintas fases de crecimiento o cinética de los cultivos experimentales. Las conclusiones respecto a la mayor sensibilidad de los citados grupos se resumen en una gran disponibilidad a ser afectadas por la acción de la BLM las poblaciones celulares que no se dividen y progresivamente menor, durante el crecimiento exponencial. De todos modos la afectación va a ser mayor, dentro de - las poblaciones en división, sobre las células en fases G₁ que en las que se sitúan en fases G₂ y sobre todo en las poblaciones en mitosis (8 y 73).

2.2. CLINICO

La efectividad, ya citada, de la BLM como antitumoral en carcinomas experimentales, unido a que, por ser de naturaleza distinta a otros fármacos antitumorales utilizados hasta entonces, no produce daño en la médula osea y no muestra efecto inmuno supresores (30 y 64) hizo que ya en 1.965 Ichikawa y colaboradores (52) iniciaran estudios controlados en el tratamiento de tumores malignos de tracto urogenital, aunque estos primeros ensayos no fueron efectivos. Sin embargo una vez suspendidos los estudios controlados por su poca efectividad, en 1.966, el dramático efecto de la BLM aplicada a un cáncer de pene hizo que los estudios se orientaran hacia los carcinomas de células escamosas y a la localización cutánea, donde se observó una mayor concentración del preparado (134). La eliminación es en un 50% renal y el resto tiene metabolización hepática, aunque estos procesos no son todavía bien conocidos (18 y 90).

Posteriormente, la introducción en clínica de la BLM es masiva realizándose numerosas experiencias en el tratamiento tumoral (13, 21 y 89) de toda índole orientándose fundamentalmente hacia el carcinoma epidermoide (29 y 75), y a la asociación en aquellos linfomas que no remiten con terapéutica habitual (22 y 144). Sin embargo su utilización se ha difundido con notable extensión siendo utilizada en tumores cerebrales (127), en tumores de cara y cuello (12 y 125), de la boca y territorios ORL (62 y 111), esófago (39 y 81), pulmón (5, 91, 92, 126 y 145), ginecológicos (124), de pene o testiculares (38, 109 y 110), de pene (53), así como en linfomas y Hodgkin (22, 29 y 143). La droga fué utilizada sola o en terapéutica combinada (17 y 102) e incluso en los últimos años debido a su afinidad por las lesiones tumorales y por la piel y pulmón (24 y 134) se ha propugnado en el diagnóstico de localización tumoral, por gammagrafía marcándola con metales radiactivos y entran

do a formar parte de los medios de despistaje oncológicos (66, 76, 87, 88 y 104).

Al pasar los años y aumentar el número de pacientes tratados con BLM se comenzaron a comunicar numerosos efectos tóxicos de este preparado tal como había ido sucediendo con los anteriores productos antineoplásicos que habían comenzado a ser utilizados. Además de la fibrosis pulmonar (que comentaremos después ampliamente) y de la hepatopatía reversible en perros comunicada por sus descubridores ya en los primeros trabajos (134) han aparecido numerosos trabajos que informan sobre los efectos tóxicos. Nos vamos a limitar en este punto de la exposición a comentar los datos obtenidos de nuestros enfermos y los de algunos grupos de la literatura (13, 43 y 144) por ser lo suficientemente numerosos como para poder concluir aspectos sin temor a errores y omisiones. Los datos más sobresalientes están descritos en la tabla de la figura 2.

En primer lugar aparecen los accesos febriles inmediatamente después de la inyección, con tiritona, temperatura hasta de 41°C en ocasiones con sensación de disconfort y escalofríos que alcanza hasta el 60% en la serie de Yagoda y el 50% en la de Carter y que en nuestra experiencia es aún superior a estas cifras. Se interpreta esta reacción como inespecífica no achacable únicamente a anafilaxia sino también en relación con la liberación de pirógenos endógenos (29). No obstante, hay algunos casos en que la anafilaxia no puede descartarse totalmente sobre todo pensando en que estos enfermos han recibido en ocasiones inyecciones previas de la droga o es posible que otros fármacos antitumorales puedan actuar como sensibilizantes previos como veremos al comentar las reacciones cutáneas (6).

Respecto a las alteraciones y reacciones producidas en la piel son

CLINICA.— Manifestaciones no deseables

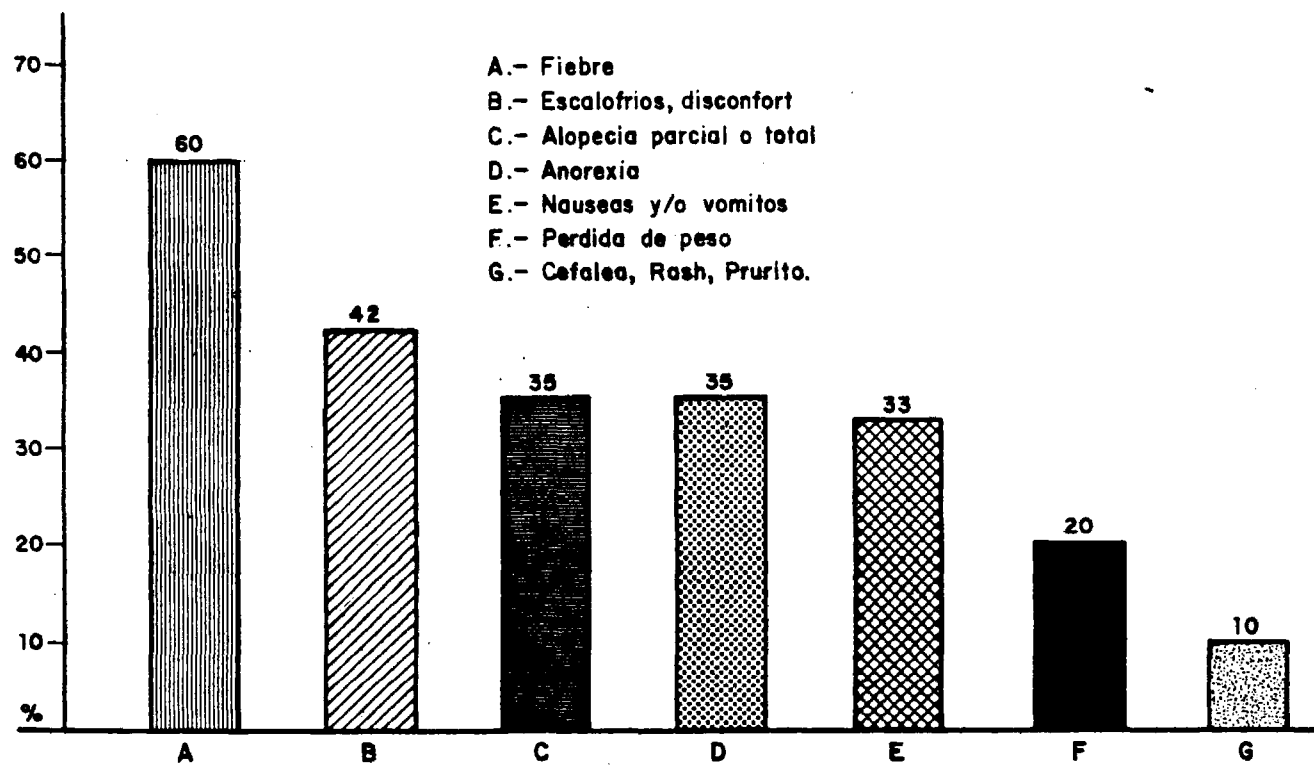


Figura 2. - (Modificado de Yagoda)

claramente comprensibles si tenemos en cuenta la mayor concentración del producto en dicha localización y que las manifestaciones cutáneas son por excelencia el escaparate de las reacciones de mecanismo alérgico en general (24). En primer lugar, se sitúa la alopecia en casi un 40% para Yagoda y entre un 10% a 40% en otros autores (13 y 144) en nuestra experiencia la caída del pelo en mayor o menor grado aparece en casi la totalidad de los enfermos tratados, si bien es verdad que sólo en los porcentajes descritos llega a constituir problema estético por el que el paciente se preocupe. Otros síntomas cutáneos son las estomatitis incluso ulceradas hasta en el 20% de los pacientes. Nos encontramos también con áreas de eritema progresivo que puede llegar a ulcerarse sobre todo en zonas de máxima presión o roce que responden bien a la retirada de la droga y que, como hemos descrito, progresan continuamente si se continua la terapéutica. Es conveniente comentar que las lesiones son generalmente, dosis dependientes en cuanto a su extensión y gravedad pero que se han comunicado (125) reacciones cutáneas que semejan la hipersensibilidad tardía con fenómenos de cruce al desarrollar las mismas lesiones en localización, intensidad y forma, que tuvieron con la BLM al recibir en otros ciclos methrotexate, mitramicina u otras nitrosoureas hasta seis semanas después, recidiéndose las áreas de eritema que presentaron en su primer tratamiento; estos signos no han sido observados con otros agentes alquilantes. En un pequeño porcentaje de pacientes, 11% y 9% se aprecian rash morbiliforme y prurito respectivamente y estas manifestaciones pueden ser minimizadas mediante la terapéutica previa o simultánea de un agente antihistamínico, pero no ocurre así si utilizamos aspirina, derivados pirazolónicos o indomethacina. Se ha observado también hiperpigmentación.

La anorexia y los vómitos, así como el estado nauseoso, se presentan con gran frecuencia, pero hay que matizar que las apariciones van -

distanciándose y haciéndose menos importantes conforme se van repitiendo las inyecciones de BLM a lo largo de un ciclo. Sin embargo, si se suspende la droga y se reanuda posteriormente al cabo de algunas semanas, de nuevo aparecen los síntomas a que nos referimos con la misma intensidad que en los primeros contactos con la droga. Semejante situación la plantea el dolor de cabeza que aparece en el 10% de los pacientes tratados.

La tos inmediatamente después de la inyección ha sido observada con cierta frecuencia, pero no se ha podido demostrar una mayor incidencia de lesión pulmonar en estos enfermos, más bien se ha puesto en relación con la aparición de traqueitis e incluso ulceraciones en la mucosa traqueal que pueden más directamente condicionar este síntoma. - También se han comunicado úlceras en el esófago y esofagitis generalizadas.

En un porcentaje pequeño, alrededor del 3%, y sobre todo en pacientes que previamente eran portadores de una artritis reumatoide, se ha observado la aparición de fenómenos de artritis aguda en las articulaciones previamente más afectas, sin embargo en ellos se ha visto como disminuyen los títulos de fijación de latex y desaparecen durante la terapéutica con BLM las células LE que posteriormente, al retirar la medicación, vuelven a hacerse positivas así como los títulos de latex alcanzan los valores previos (143 y 144).

Pasando al capítulo de las alteraciones hematológicas y bioquímicas - hemos de citar las múltiples alteraciones en los contajes sanguíneos - con ligera anemia, leucopenia y trombopenia (Kradoff, citado en 13), que suele ser reversible y poco importante, así como mínimas elevaciones de transaminasas, lactodehidrogenasa, fosfatasa alcalina y - otros enzimas (143). Sin embargo, es conveniente tener en cuenta la

progresión de la enfermedad que hizo utilizar la BLM y el deterioro -
progresivo del paciente así como la asociación en determinados casos
a otras drogas de conocida acción tóxica para determinados órganos,
por lo que no es posible asegurar un papel ni siquiera mínimo a la -
BLM en la producción de las alteraciones enzimáticas descritas. No
obstante, no se pueden olvidar las alteraciones hepáticas en perros -
(135 y 136) que de una forma reversible fueron descritas en los comien
zos de la aplicación de la droga. Así tampoco debemos dejar de citar
las nefropatías intersticiales que en tratamientos prolongados y con -
dosis muy elevadas (12-14 meses y más de 60 mg/kg respectivamente),
han sido observadas por el grupo Worcester (116).

CAPITULO 3

Experiencia Personal
MATERIAL Y METODOS

3.1. ESTUDIOS EN HUMANOS

3.1.1. Criterios de Selección

Se han recogido para su estudio 20 enfermos portadores de carcinoma epidermoides de distintas localizaciones y linfomas resistentes - al tratamiento habitual empleado para ellos y que fueron incluidos - en el protocolo de Bleomicina : Se exigió como condición que no recibieran otras drogas durante el tiempo del estudio funcional, exceptuando la prednisona y/o antihistamínicos para esta selección.

3.1.2. Historias de Enfermos

Caso nº 1 .- J.G.G., paciente de 57 años de edad, diagnosticado - de carcinoma epidermoide ureteral que recibió 300 mg. de Bleomicina en 31 días. Fumador de alrededor de 20 cigarrillos diarios y tuberculoso activo hace 5 años. En la exploración física se apreciaba disminución del murmullo vesicular. Las radiografías mostraban lesiones apicales residuales en ambos vértices, pinzamiento de ambos senos costofrénicos, no hubo cambios durante el tratamiento. La hemoglobina pasó de 15'6 g. a 13'2 g., el TL de 16'7 ml/min/mm de Hg a 15 y la capacidad vital de 79% a 70%. (TL = D_LCO).

Caso nº 2 .- F.G.G., 65 años de edad, portador de un carcinoma - de pulmón, recibió 120 mg. en 37 días, no tenía historia respiratoria aunque era fumador habitual, tenía un síndrome de cava superior. La radiografía mostraba parálisis del diafragma derecho y una imagen redondeada en lóbulo superior derecho, paramediastínica que redujo su tamaño después del tratamiento. Las cifras de hemoglobina - pasaron de 15'3 g. a 12'3 g., la capacidad vital se mantuvo en 100% y el TL de 20'16 a 19'60 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 3 .- M.P.V., paciente de 48 años que previamente había -
recibido 150 mg. de Bleomicina por un melanoma, recibió en el hos-
pital 200 mg. en 14 días, no tenía historia respiratoria y los cam-
bios radiológicos fueron prácticamente inapreciables. La hemoglobi-
na pasó de 14'7 g. a 14'8 g., la capacidad vital de 109% a 94% y el
test de difusión de 22'2 a 16 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 4 .- J.L.V., carcinoma indiferenciado de pulmón, de 63 -
años, recibió 380 mg. en 90 días, era portador de un síndrome bron-
quítico con discreta espectoración diaria. La imagen radiológica es
de una atelectasia del lóbulo superior izquierdo que desaparece du-
rante el tratamiento, por lo que aumenta su capacidad vital; al final
de su evolución se repite la atelectasia sin cambios radiológicos en
el resto del parénquima. La hemoglobina pasó de 12'2 a 11'9 g., la
capacidad vital de 83% a 94% y el test de difusión de 16'8 a 14'8 -
ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 5 .- M.R.F., 60 años, carcinoma epidermoide de esófago.
Recibió 300 mg. en 36 días. No tenía historia respiratoria y en la -
radiografía sólo se apreciaba una bulla en vértice izquierdo sin cam-
bio en el patrón radiológico después del tratamiento. La hemoglobina
pasó de 14'6 a 12'5 g., la capacidad vital de 96 a 101% y el test de
difusión de 34'4 a 18'2 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 6 .- M.F.M., 46 años, carcinoma microcítico de pulmón.
Recibió 360 mg. en 80 días en tres ciclos de 15 días cada uno. Era
tosedor y expectorador habitual y fumador de 5 paquetes diarios de
cigarrillos y 4 cigarros, por lo que se etiquetó como síndrome bron-
quítico del fumador. En las primeras radiografías presenta una tumo-
ración con atelectasia del lóbulo inferior izquierdo con derrame pleu-
ral de ese lado que se resuelve en el primer ciclo por lo que aumen-

ta su capacidad vital de 65 hasta 88%, a pesar de lo cual el test de difusión disminuye. Al final de la evolución hay moderados signos - de fibrosis basal en la radiografía de torax. La hemoglobina pasa - de 15'4 a 10'2 g., la capacidad vital de 65% a 35% de su valor teórico y el test de difusión desciende de 18'4 a 10 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 7 .- V.H.T., 37 años, carcinoma epidermoide de pulmón. Se le administraron 240 mg. en 60 días. En la historia se reflejan - síntomas compatibles con bronco espasmos hasta los 14 años, desapareciendo después de la sintomatología por completo, fumador muy discreto. No hay cambios en el parénquima pulmonar, en la radiografía de torax. La hemoglobina pasa de 14 a 13,5 g., la capacidad vital disminuye de 79 a 69%, y el test de difusión de 24'3 a 19'1 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 8 .- A.L.A., paciente de 28 años, diagnosticado de Hodgking (IV,b) resistente al M.O.P.P. No tenía historia respiratoria - y la radiografía sólo mostraba escoliosis dorsal sin modificaciones en el parénquima pulmonar después de la terapéutica con 360 mg. de Bleomicina que recibió en 120 días. Los cambios sufridos fueron los que siguen : Hemoglobina de 11'4 a 10'3, capacidad vital de 103 a - 90% y test de difusión de 31 a 27 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 9 .- A.S.U., carcinoma epidermoide de parótida, de 50 - años de edad, recibió tres ciclos de 150 mg., es decir, un total de 450 mg. en 100 días. No tenía historia respiratoria y aunque no disponíamos de las radiografías nos fué informado por un colega de Las Palmas que siguió la evolución del enfermo que se objetivaron imágenes de fibrosis pulmonar con formaciones fibro-nodulares en las bases. La hemoglobina pasó de 10'9 a 11'8 g., la capacidad vital de 96 a 83% y el test de difusión de 17'6 a 12'2 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 10. - Q.S.R., de 46 años, con un carcinoma epidermoide de encía, recibió 300 mg. en 50 días. No tenía historia respiratoria ni era fumador, los cambios radiológicos fueron evidentes con aparición de fibrosis en bases e ileos pulmonares. La capacidad vital pasó de 93 a 80%, y el test de difusión de 20'7 a 15'6 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 11. - J.G.M., paciente de 60 años, diagnosticado de carcinoma epidermoide de pulmón, que había recibido previamente radioterapia de mediastino y en lóbulo superior derecho. Se le administraron 120 mg. en 15 días. Su historia reflejaba catarros invernales y espectoración matutina habitual, era fumador de tres paquetes de cigarrillos diarios. Las exploraciones radiológicas muestran una atelectasia del pulmón derecho que se resuelve con el tratamiento, - pero sin cambios en el patrón en el resto del parénquima pulmonar. La hemoglobina pasa de 12'5 a 13'2 g., la capacidad vital de 67 a - 42% y el test de difusión de 13 a 10'4 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 12. - J.Q.T., 69 años, recibe tres ciclos de 120 mg. como tratamiento de un carcinoma epidermoide de pulmón. En total son - 360 mg. en 150 días. Tiene un síndrome bronquítico. No hay cambios radiológicos excepto un discreto aumento de la masa tumoral. La hemoglobina pasa de 15'2 a 12'6 g., la capacidad vital de 71% a 47%, y el test de difusión de 17'7 a 10 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 13. - A.V.C., es una enferma de 85 años, que tenía un - epiteloma espino-celular de la lengua, recibe 3 ciclos de 150 mg. - en 180 días (dosis total 450 mg.). No tiene historia respiratoria y - la evolución radiográfica es hacia ligera fibrosis pulmonar. El test de difusión desciende de 20'7 a 11'5 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 14 .- J.M.B., 58 años, con un carcinoma de esófago. Recibe la dosis máxima de nuestra serie, 600 mg. en 90 días, descendiendo la capacidad vital de 96% a 86% y el test de difusión de 20'7 a 13'5 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 15 .- S.A.A., carcinoma microcítico de pulmón, de 55 años, tres ciclos de 120 mg. cada uno, es decir, una dosis total de 360 mg. en 110 días. Es fumador y espectorador matutino por lo que se le incluye dentro de el síndrome bronquítico. En la radiografía de torax no hay cambios visibles en el parénquima, manteniéndose la masa hilar izquierda que correspondía a la tumoración. La hemoglobina pasa de 11'9 a 11'7 g., la capacidad vital de 57 a 40%, y el test de difusión de 17'2 a 11'5 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 16 .- M.C.R., 27 años. Portador de un Hodkin (IV,b), resistente al M.O.P.P. Recibe 4 ciclos en 300 días con un total de 450 mg. No historia respiratoria previa. Fumador de un paquete diario. La evolución radiográfica es hacia muy discreta fibrosis. La hemoglobina cambia de 12'2 a 11'8 g., la capacidad vital de 109 a 98% y el test de difusión de 29'2 a 25'6 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 17 .- U.V.V. .- 44 años, carcinoma epidermoide de esófago, le administraron 270 mg. en 30 días. Historia de espectoración matutina y síndrome bronquítico con un Tiffeneau de 50% y una máxima capacidad ventilatoria del 81%. No hay en su evolución cambios radiográficos de interés que no sean secundarios a la trasposición de colon que se le realizó con buen resultado. Le hemoglobina pasó de 14 a 11'8 g., la capacidad vital descendió de 113 a 70%, y el test de difusión pasó de un inicial de 27'5 a un final de 13'4 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 18 .- J.F.M., 61 años, carcinoma epidermoide de esófago. Recibe 420 mg. en 42 días. No tiene historia respiratoria ni cambios radiológicos. La hemoglobina pasa de 14'2 a 14 g., la capacidad vital de 104 a 110%, y el test de difusión de 29'1 a 20 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 19.- V.M.A., carcinoma de pene, de 59 años de edad, - que recibe 150 mg. en 10 días. La hemoglobina pasa de 13'8 a 13 g., la capacidad vital de 106 a 65%, y el test de difusión que en principio era de 29'1 pasa a ser de 20 ml/min/mm de mercurio.

Caso nº 20 .- M.M.P., enferma de 49 años de edad, con un linfoma sarcoma linfocítico resistente al M.O.P.P., a la que se administran 240 mg. en 90 días. No tiene historia respiratoria previa y muere - en situación de distress respiratorio agudo que después se comprueba anatomopatológicamente corresponde a un pulmón de Bleomicina, el mismo día de las últimas exploraciones respiratorias funcionales. La radiografía es concluyente de patrón intersticial y alveolar. La hemoglobina pasa de 12'3 a 13'2 g., la capacidad vital de 106 a 65%, y el test de difusión de 14'5 a 6'9 ml/min/mm de mercurio.

Los veinte casos anteriormente descritos se exponen en el Cuadro - de la Figura 3 de una manera resumida y con los datos obtenidos.

3.1.3. Técnicas

A) Funcionales : En todos ellos se midieron la hemoglobina, los datos de espirometría y el test de difusión (D_LCO single breath). El volumen alveolar efectivo se obtuvo de 9 enfermos durante la medición del test de difusión. Las pruebas ventilatorias se obtuvieron -

| N° | Paciente | Edad años | Diagnostico | Dosis mgrs. | Duración días | Hb gramos inicial final | TL ml/min/mm.Hg inicial final | CV % inicial final | H²resp + + + | Cambios Rx + + + |
|----|----------|-----------|------------------------------|-------------|---------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|--------------|------------------|
| 1 | J. G. G. | 57 | Ca epidermoide de uréter | 300 | 31 | 15,6 13,2 | 16,7 15,0 | 79 70 | + | - |
| 2 | F. G. G. | 65 | Ca pulmón | 120 | 37 | 15,3 12,5 | 20,2 19,6 | 100 100 | + | - |
| 3 | M. B. V. | 48 | Melanoma | 200 | 14 * | 14,7 14,8 | 22,2 16,0 | 109 94 | - | + |
| 4 | J. L. V. | 63 | Ca pulmón | 380 | 90 | 12,2 11,9 | 16,8 14,8 | 83 94 | ++ | - |
| 5 | M. R. F. | 60 | Ca epidermoide de esófago | 300 | 36 | 14,6 12,5 | 24,4 18,2 | 96 101 | - | - |
| 6 | M. F. M. | 46 | Ca microcitico de pulmón | 380 | 80 | 15,4 10,2 | 18,4 10,0 | 65 35 | ++ | + |
| 7 | V. H. T. | 37 | Ca epidermoide de pulmón | 240 | 60 | 14,0 13,5 | 24,3 19,1 | 79 69 | - | - |
| 8 | A. L. A. | 28 | Hodgkin | 360 | 120 | 11,4 10,3 | 31,0 27,0 | 100 90 | - | - |
| 9 | A. S. V. | 50 | Ca epidermoide de parótida | 450 | 100 | 10,9 11,8 | 17,6 12,6 | 96 83 | - | ++ |
| 10 | Q. S. R. | 46 | Ca epidermoide de encia | 300 | 50 | 15,0 - | 20,7 15,6 | 93 80 | - | + |
| 11 | J. G. M. | 60 | Ca epidermoide de pulmón | 120 | 15 * | 12,5 13,2 | 13,0 10,4 | 67 42 | ++ | - |
| 12 | J. Q. D. | 69 | Ca epidermoide de pulmón | 360 | 150 | 15,2 12,6 | 17,7 10,0 | 71 47 | ++ | - |
| 13 | A. U. C. | 85 | Epitelioma espi-no de lengua | 450 | 180 | - - | 18,2 10,7 | - 97 | - | + |
| 14 | J. M. B. | 58 | Ca esófago | 600 | 90 | - - | 20,7 13,5 | 86 76 | - | - |
| 15 | S. A. A. | 55 | Ca microcitico de pulmón | 360 | 110 | 11,9 11,7 | 17,2 11,5 | 57 40 | ++ | - |
| 16 | M. C. R. | 27 | Hodgkin | 450 | 300 | 12,2 11,8 | 29,2 25,6 | 109 98 | - | + |
| 17 | Q. V. V. | 44 | Ca epidermoide de esófago | 270 | 30 | 14 11,8 | 27,5 13,4 | 113 70 | ++ | - |
| 18 | I. F. M. | 61 | Ca epidermoide de esófago | 420 | 42 | 14,2 14,0 | 29,1 29,0 | 104 110 | - | - |
| 19 | V. M. A. | 59 | Ca epidermoide de pene | 150 | 10 * | 13,6 13,0 | 29,1 20,0 | 97 96 | - | - |
| 20 | M. M. P. | 49 | Linfosarcoma | 240 | 90 | 12,3 13,1 | 14,5 6,9 | 106 65 | - | ++ + |
| | MEDIAS | | | 320 | 82 | 12,6 12,5 | 21,4* 16,03 | 90,2 74 | | |

Figura 3

efectuándose en posición sentada con un volumógrafo tipo Stead-Wells de la firma Mijhardt, comparándose con las cifras que se dan como normales por Kory (59), ya que nos parecieron más adaptables a la población española que las de CECA, cuya procedencia es fundamentalmente de población minera. La hemoglobina se midió en un contador Coulter modelo S. Los test de Difusión fueron realizados por el método "Single breath" de difusión para el monóxido de carbono con un aparato Morgan, modelo Mark IV, que fué calibrado antes y después de cada medición, las cifras con que fueron comparadas los datos de los pacientes fueron tomadas de Cotes (26). Las historias clínicas fueron revisadas por el autor, descartando para su análisis los datos que no fueran objetivos.

B) Radiológicas: Se obtuvieron radiografías de torax de todos los pacientes de la serie en posiciones postero-anterior y lateral antes de comenzar la terapéutica, durante el tratamiento y después de terminar éste, siendo valoradas por el autor en grupos, previamente a conocer los datos de evolución clínica y funcional, eligiéndose sólo la realizada previamente y la inmediata posterior a la finalización. Los cambios radiológicos en orden a la aparición de signos de fríbrosis fueron evaluados en cruces sobre un máximo de tres. Los hallazgos de otro tipo (atelectasia, metástasis, etc.) son descritos independientemente de la valoración de los signos de fibrosis.

C) Morfológicas: Se eligieron cuatro casos tratados con BLM en dosis superior a los 200 mg. (Nº 1, 4, 8 y 20 de la serie), que habían fallecido en el hospital y a los que se pudo hacer necropsia. No se tuvo en cuenta la presencia o no de alteración funcional respiratoria previa de los casos elegidos, y de hecho uno de ellos (nº 1), tenía una función pulmonar sin cambios con respecto a antes de comenar

zar la terapéutica. Se utilizaron en el análisis sólo los pulmones, - que fueron incluidos mediante insuflación continua por vía bronquial de formol al 10% durante cuarenta y ocho horas, hasta que alcanzaron el volumen similar al que tenían en la cavidad torácica. Las - muestras fueron analizadas macroscópicamente y se incluyeron en - parafina en bloques de cada uno de los lóbulos elegidos al azar. Se realizaron cortes de 4 a 6 micras que se tiñeron con las siguientes técnicas para microscopia óptica : Hematoxilina-eosina, PAS, Tricrómico de Mason, Gallego (para fibras elásticas) y Wilder (para - reticulina). En uno de los casos (caso nº 20), se incluyó una pequeña muestra de glutalaldehído para microscopía electrónica.

3.1.4. Análisis Estadístico

Las diferencias entre capacidad vital (CV), Factor de transferencia (TL) y hemoglobina (Hb), se han calculado mediante el sistema de límites de significancia de la distribución de Student para lo que se - concluyeron unos valores de "P" y de "t" que fueron los utilizados (119). La prueba "t" de Student no es exactamente la más adecuada dada la naturaleza de los datos, puesto que las mediciones antes y - después están tomadas de los mismos individuos y es perfectamente posible pensar que los dos grupos de datos están relacionados entre sí. Sin embargo, se ha elegido este sistema de análisis de los datos ya que esto sólo podría hacer que el valor real de la "t" fuera aún - mayor que el obtenido y por tanto la comparación en el caso de obtener diferencias altamente significativas, como ocurre en nuestro caso, es siempre válida al tratarse, además, de curvas unimodales.

.2. ESTUDIOS EN ANIMALES

.2.1. Protocolo Experimental

Se han empleado 70 ratas blancas de laboratorio raza Wistar, divididas en 7 series de diez ratas cada una. A estas series se las ha numerado del I al VII -llamando serie N a la serie control- y han sido mantenidas en jaulas metabólicas durante toda la experiencia, -siendo alimentadas con piensos compuestos (Sandermus), cuya composición cuantitativa es la siguiente :

| | |
|---------------------------|--------|
| Hidratos de Carbono | 70% |
| Proteínas..... | 22,40% |
| Grasas | 3,40% |
| Elementos minerales | 4,20% |

Una vez a la semana se les administraba un suplemento de verdura -fresca. Todos los animales fueron sometidos a las mismas condiciones de movilidad en las jaulas, así como al mismo ritmo de alimentación de unas series a otras. En el animalario se mantuvo el ritmo -día-noche durante toda la experiencia, pero no hubo luz solar directa sobre las jaulas.

Las dosis que se aplicaron, siempre por vía intramuscular en la pared abdominal, fueron las que podemos ver en la tabla de la Figura 4.

Por accidente en el animalario, se perdieron tres ratas de la serie V durante la experiencia.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL.-

GENERAL

| SERIES | DOSIS TOTAL | TIEMPO | SACRIFICIO | OBSERVACIONES |
|--------|-----------------------|----------|------------------|----------------------------|
| N | Agua bidestilada | ----- | de 70 a 150 dias | ----- |
| I | 5 mg / Kg. de peso | 70 dias | 70 dias | ----- |
| II | 10 mg / Kg. de peso | 70 dias | 70 dias | ----- |
| III | 10 mg / Kg. de peso | 70 dias | 70 dias | Betametasona 13,3 mg / Kg. |
| IV | 16,5 mg / Kg. de peso | 120 dias | 120 dias | ----- |
| V | 22,5 mg / Kg. de peso | 150 dias | 150 dias | ----- |
| VI | 10 mg / Kg. de peso | 70 dias | 150 dias | ----- |

INMUNOFLUORESCENCIA

| SERIES | DOSIS TOTAL | TIEMPO | SACRIFICIO |
|--------|---------------------|---------|------------|
| A | 14 mg / Kg. de peso | 70 dias | 70 dias |
| B | 26 mg / Kg. de peso | 70 dias | 70 dias |
| C | Agua bidestilada | 70 dias | 70 dias |

Figura 4

El modo de sacrificio de los animales fué mediante apertura de la -
cavidad abdominal previa anestesia por inhalación con éter sulfúri-
co y desangrado por punción de la suprahepática dando como causa
de muerte anemia aguda. Ningún animal murió durante la fase de ex-
perimento.

3.2.2. Técnicas

A) Bioquímicas : La sangre se extrajo con heparina y fué centrifu-
gada inmediatamente a temperatura ambiente a 2.000 R.P.M., duran-
te cuatro minutos. La muestra de plasma resultante, se analizó en
un autoanalizador Technicon, modelo SMA 12/60 para obtener los -
valores de Calcio, Fósforo, Colesterol, Urea, Glucemia, Acido Uri-
co, Creatinina, Bilirrubina, Fosfatasa Alcalina, Lactodehidrogena-
sa y Transaminasa glutámico oxalacética. Asimismo, una muestra -
de plasma se separó para realizar electroforesis de proteínas en -
papel según técnica convencional y obtener de esta forma los datos
de albúmina, alfa-1, alfa-2, beta y gammaglobulinas de todos los -
animales de experimentación. Durante la experiencia se perdieron,
por accidente, cuatro muestras correspondientes a tres animales de
la serie I y a uno de la serie N.

B) Morfológicas : En las ratas sacrificadas, se extrajo el paquete
cardiopulmonar desde la laringe, liberando posteriormente la tráquea
y los pulmones del corazón y grandes vasos. De una zona distal, pa-
ra lo que se eligió el lóbulo inferior izquierdo se tomó, de forma in-
mediata, una pequeña muestra que fué fijada en glutaldehído y trata-
da de forma convencional para microscopía electrónica. El resto se
fijó mediante insuflación continua con formol al 10% por la vía aérea
a una presión de 15 cm. de agua durante cuarenta y ocho horas. Es-

ta presión y tiempo fueron elegidos después de realizar experiencias previas con ratas normales, en orden a conseguir aquella presión que no dejase zonas atelectásicas sin llegar a romper la pared alveolar y dejando los pulmones en situación similar a la que tienen en inspiración simple, nos dedicamos por 15 cm. de agua después de probar presiones desde 5 cm. a 60 cm. El mecanismo empleado es el que muestra el esquema de la Figura 5.

Las muestras así obtenidas fueron incluidas mediante métodos "standard" en parafina en dos bloques, uno de cada pulmón y se cortaron en panorámicas completas de 4 a 6 micras de espesor, tiñéndose con Hematoxilina-eosina. De esta manera, obtuvimos visiones morfológicas de todo el pulmón a estudiar. Las piezas más demostrativas se tiñeron con el tricómico de Mason.

En el mismo acto necrópsico descrito anteriormente en este capítulo, se recogieron muestras de piel, músculo, riñón e hígado, que fueron fijadas inmediatamente en formol al 10% y posteriormente incluidas en parafina. Se realizaron cortes entre 4 y 6 micras de espesor y se tiñeron según técnica standard con hematoxilina-eosina para microscopía de luz.

- 3.2.3. Inmunofluorescencia : Posteriormente, y para el estudio programado con inmunofluorescencia, se prepararon tres eries de cinco ratas cada una con el mismo cuidado general y metodología descrita en el protocolo experimental que, durante esta experiencia, recibieron el tratamiento que hemos indicado en el Cuadro de la Figura 5.

Los pulmones de estos animales se extrajeron por el mismo método descrito en la anterior experiencia y sumergidos en suero fisiológico-

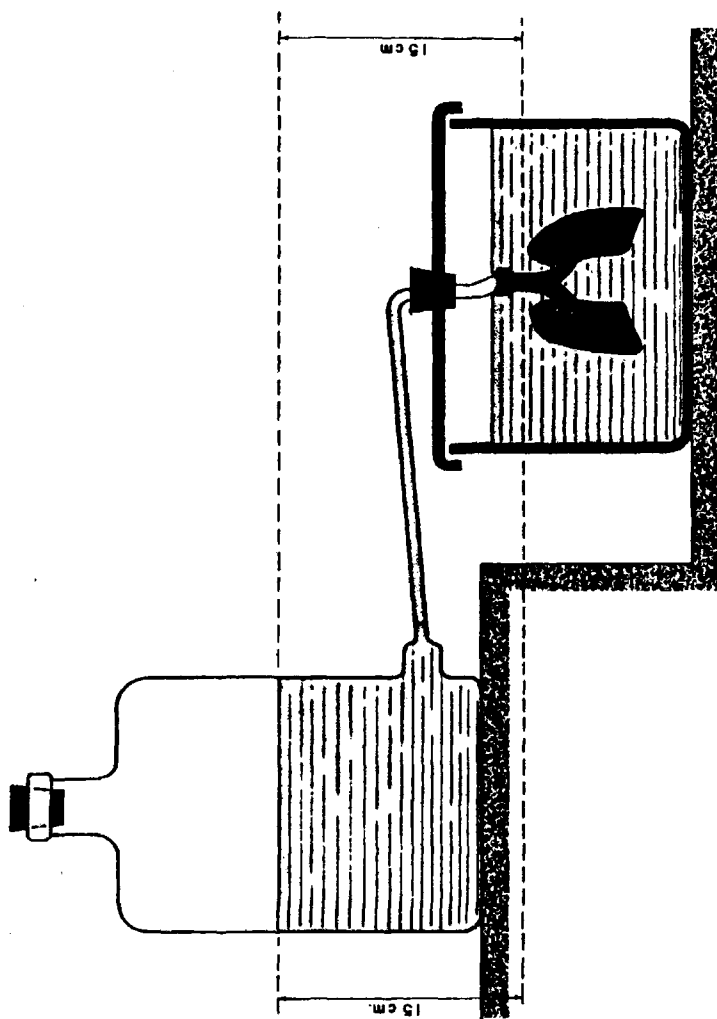


Figura 5

co frío (4°C) para que en un periodo inferior a cuarenta y cinco minutos siguieran el proceso de fijación con nitrógeno líquido y, posteriormente, se cortaron también de forma panorámica global de cada pulmón con un espesor de tres micras y se trataron con antisuero conjugado con isothiocianato de la casa Behring (Antiganmaglobulina de ratón, en conejo, TPN-05) marcado con fluoresceína. Previamente a esta experiencia, y puesto que no existían antisueros de rata comercializados, se demostró la actividad del preparado utilizado frente a las inmunoglobulinas de ratas de la misma raza de las empleadas en la experiencia mediante inmunoelectroforesis en placa. El antisuero utilizado fué antiganmaglobulina total, sin separación de fracciones, no se probaron ni complemento ni fibrinógeno. Las preparaciones se observaron en un microscopio de fluorescencia, modelo Fotomicroscopio III de la casa Zeiss.

3.2.4. Análisis Estadístico

Los parámetros obtenidos del SMA y del E.E.F. de proteínas, fueron analizados estadísticamente mediante el sistema de límites de significancia de la distribución de Student (119), para análisis de diferencias entre grupo normal y grupos tratados. En algunas de las series se hicieron varias comparaciones según el momento del sacrificio de las ratas, como se detallará en el capítulo de resultados. Se consideró como significativa una probabilidad del 95%, es decir, "p" menor de 0,05.

CAPITULO 4

RESULTADOS

4.1. RESULTADOS HUMANOS

4.1.1. Funcionales

Los resultados obtenidos están reflejados en el cuadro general de la figura 3 y en las dos figuras accesorias 6 y 7, y podemos concluir con los datos que a continuación se expondrán.

Solamente en tres de nuestros casos la variación de la cifra para el TL ($D_L CO$) no la consideramos significativa, ya que siguiendo a Cotes (26), los límites de tolerancia del método los ciframos alrededor de 1'5 ml/min/mm de Hg y pensamos que variaciones por encima de este dato son significativas en cuanto a cambio en la capacidad de difusión. En 8 de los mismos casos el descenso ha sido superior al 25%, siendo el descenso mayor el obtenido en el último caso de nuestra serie (nº 20) que alcanzó un valor del 58% del previo al tratamiento. Las diferencias entre $D_L CO$ de antes y después son estadísticamente significativas ($P < 0.001$).

Las variaciones de la hemoglobina, incluídas por su posible influencia en los resultados del test de difusión por el método DLCO han sido pequeñas, y no significativas desde el punto de vista del análisis estadístico por lo que prácticamente no han influido en los datos finales obtenidos.

En siete de los nueve pacientes en los que se calculó el volumen alveolar efectivo, se aprecia un descenso importante que en el caso de los enfermos 2 y 20 ha sido superior al 35%. Hay que señalar que la disminución del Volumen Alveolar Efectivo no ha sido correlativa a las variaciones de la Capacidad Vital en los casos en que dis-

VARIACIONES EN LAS CIFRAS MEDIAS

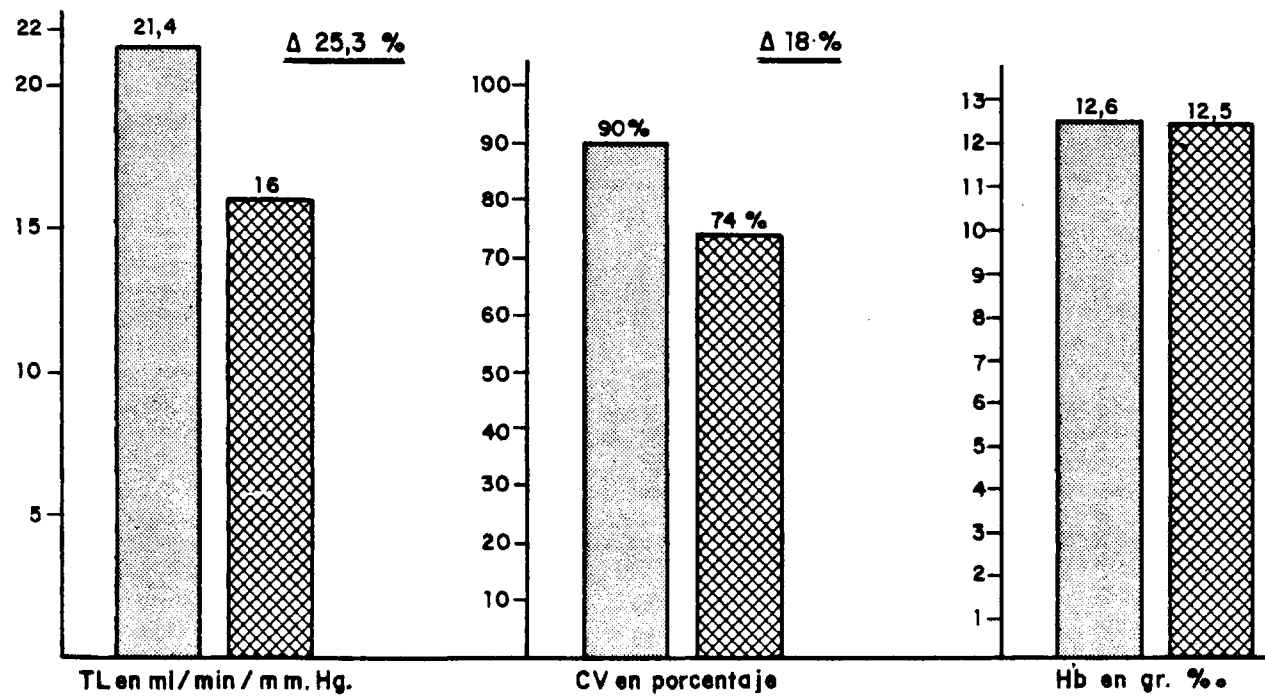


Figura 6

HUMANOS.- DATOS FUNCIONALES
RESULTADOS ESTADISTICOS

| | "t" | "p" | Significación |
|-------------------------------------|------|--------|---------------|
| Diferencias entre D _L Co | 3,03 | <0,001 | SI |
| Diferencias entre CV | 2,38 | <0,01 | SI |
| Diferencias entre Hb | 2,29 | >0,025 | NO |

Correlación entre D_L Co y Dosis $r = 0,03 \pm 0,23$
NO SIGNIFICATIVA

Figura 7

minuyó insistiendo aquí en que la difusión ha sido lo que realmente se ha afectado de manera evidente y ha influido mucho menos la pérdida de parénquima ventilado.

La Capacidad Vital descendió en catorce de nuestros casos, siendo en 6 de ellos este descenso superior al 30% con un máximo del 60% en el paciente nº 6. En uno de los casos (nº 4), observamos, durante el tratamiento, un aumento importante del valor de la Capacidad Vital de 83% a 94% del teórico en las tablas; esto es debido a la resolución de una atelectasia masiva del lóbulo superior del pulmón izquierdo, pero a pesar de este aumento en la C.V., el descenso de la difusión ha sido valorable.

De acuerdo con la duración del tratamiento, se han separado aquellos casos en los que había sido inferior a 16 días con objeto de relacionar las alteraciones de la difusión con el tiempo, por lo que se analizaron los casos números 3, 11 y 19 separadamente contra la totalidad, no pudiéndose obtener resultados que fueran estadísticamente significativos.

Otro aspecto analizado ha sido el intentar relacionar el descenso de la difusión y la dosis total recibida, para lo que se obtuvo una "r" - de 0.03 ± 0.23 que no es estadísticamente significativa.

1.2. Resultados Radiológicos

Solamente hubo cambios valorables en la radiografía de torax en siete de los veinte enfermos de la serie. De éstos, sólo en dos se valoraron de más de dos cruces por su evidencia, y en el caso número veinte cuyas radiografías se exponen en el capítulo de conclusiones,

las alteraciones fueron muy importantes.

Los cambios radiológicos consisten en un infiltrado difuso con patrón intersticial en un primer estadio y posteriormente patrón intersticial y alveolar. En casos avanzados y cronificados ya incluso después de retirar la droga, es posible ver una imagen reticular en panal indistinguible de cualquier fibrosis difusa de otra etiología.

En aquellos casos en que la enfermedad base fue un carcinoma de pulmón (casos números 2, 4, 6, 7, 11, 12 y 15) se observó mantenimiento de la imagen tumoral en cuanto a tamaño excepto en el caso 12, cuyo crecimiento fue pequeño pero evidente. En el caso número 2, el tamaño disminuyó considerablemente.

En el caso número 20, diagnosticado previamente de linfoma, llevó una evolución radiográfica manifiesta y muy importante, presentando un patrón alveolar e intersticial bilateral en ambas bases que posteriormente se extendió a campos medios con broncograma aéreo que hizo pensar en una imagen de linfagitis, pero, posteriormente, en la necropsia fueron confirmados los hallazgos histológicos propios de la lesión por BLM.

En el caso número 4, se observó una atelectasia del lóbulo superior izquierdo que desaparece con el tratamiento y que, en la última fase, vuelve a aparecer. Otra atelectasia apareció en el caso número 6, - en el L.I.I. que se acompañaba de derrame, en este caso, después del tratamiento, ambas condiciones habían desaparecido.

Para el caso número 9, no se pudieron conseguir las radiografías, por lo que pedimos informe por escrito al médico de otra ciudad, -

que llevaba el caso, quien al comparar las placas de las fechas que le facilitamos, observó una evolución hacia la fibrosis basal con "imágenes de fibrosis radiológicamente aparente y formaciones fibronodulares en bases".

4.1.3. Aspectos Morfológicos Pulmonares

Al adentrarnos en este apartado, vamos a profundizar en el aspecto del parénquima que no está afecto tumoralmente o por otras lesiones, como tuberculosis residual, etc., con objeto de analizar únicamente las alteraciones que podemos atribuir al tratamiento con BLM. En los casos que vamos a comentar, se observaron en uno de ellos, lesiones tuberculosas residuales en ambos vértices, en otro, una neumonía basal derecha, con un carcinoma epidermoide en campo medio derecho, y en el tercero y cuarto eran linfomas sin alteración macroscópica del parénquima pulmonar.

En los cuatro casos necropsiados, se encontró lesión pulmonar parenquimatosa que se achacó al tratamiento recibido con BLM, a pesar de que uno de ellos no tenía alteración radiológica visible y las cifras del test de difusión no habían mostrado cambios significativos.

La lesión histológica encontrada en nuestros casos, destaca fundamentalmente la ocupación de las luces alveolares por un material semilíquido de carácter proteináceo con el que se mezclan neumocitos granulares, es decir, tipo II, descamados así como gran cantidad de fagocitos, fácilmente demostrables con las técnicas habituales. Dicho material se condensa en la periferia alveolar adosándose al revestimiento epitelial y por su afinidad eosinófila se hace mucho más llamativo con la técnica del PAS (Figura 8), cuya positividad pone

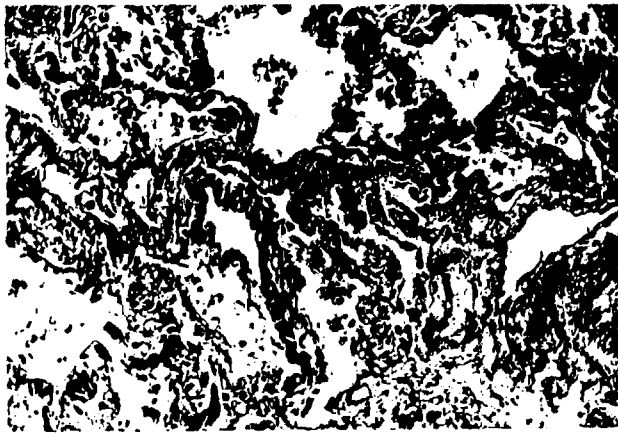


Fig 8

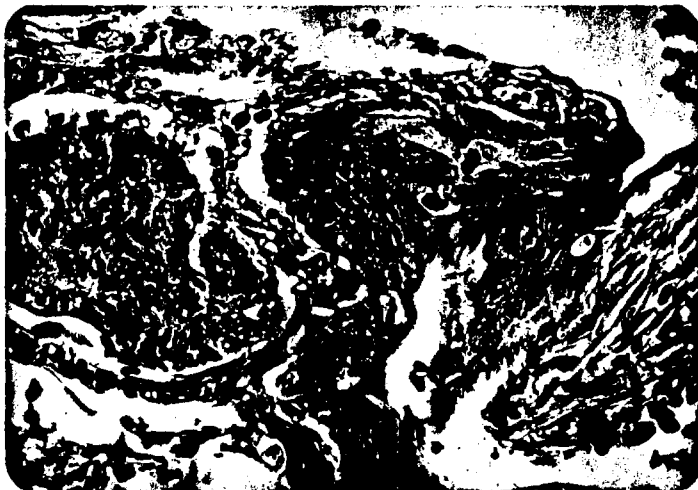


Fig 9

de manifiesto el aspecto membranaceo que posee, superponible a la llamada membrana hialina pulmonar de otras causas. Más adelante, y debido a las lesiones de la capa epitelial, que luego comentaremos, esos acúmulos y membranas comienzan a organizarse coexistiendo - al principio el líquido que citamos con escasas células conjuntivas y finas fibras reticulares y colágenas dispuestas de forma laminar las cuales proliferan poco a poco haciéndose cada vez más numerosas, hasta constituir cuerpos fibrosos intraluminares que se van a incorporar al intersticio contribuyendo a su fibrosis (Figura 9). A nivel de estos septos, donde del mismo modo que en las luces alveolares suele ser bastante llamativa la ausencia de elementos inflamatorios, existe un engrosamiento de la pared debido a una proliferación fibrilar tanto colágena como reticulínica que da lugar a la aparición de alteraciones pericapilares y rotura del armazón elástico.

Al adentrarnos en el estudio de las células de revestimiento alveolar, observamos en ellas una hipertrofia evidente, adoptando en algunas ocasiones un claro aspecto cuboideo, tipo metaplasia fetal, - pero esta hipertrofia puede ser en algunos casos tan llamativa que aparezcan zonas que podemos tildar de auténticos casos de metaplasia escamosa (Figura 10), que suele ser más abundante e importante a nivel de los bronquios terminales y bronquiolos.

Ya en estudios más avanzados, en cuanto al tiempo, hemos observado el predominio del componente fibroso intersticial como último eslabón en la dinámica temporal de las lesiones descritas, siendo la imagen que aparece de septos interalveolares muy amplios (Figura 11), verosimilmente debido a la incorporación de fibroblastos junto a una proliferación aún mayor del componente fibrilar.

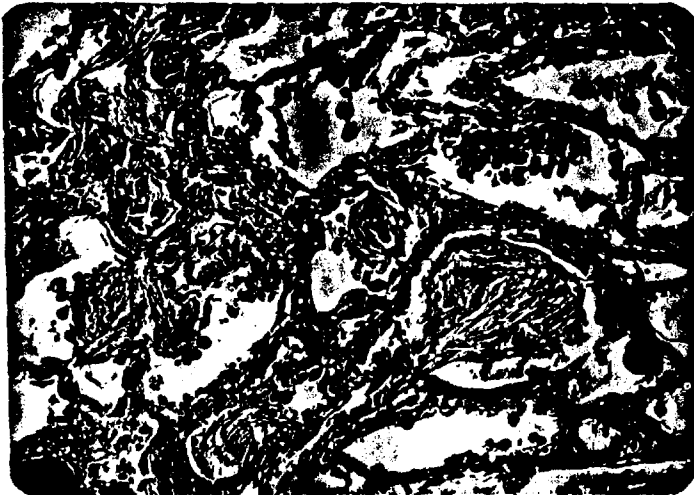


Fig 10

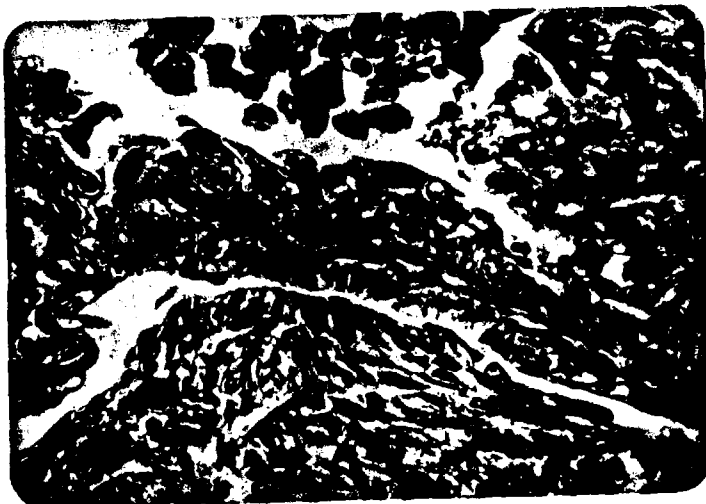


Fig 11

A nivel de los estudios de microscopía electrónica, lo más llamativo, en nuestro caso, es la alteración a nivel de los neumocitos tipo II o neumocitos granulares que aparecen aumentados en cuanto a su número, si bien es característica la disminución o incluso la pérdida de todos o parte de los cuerpos lamelares que caracterizan su citoplasma. Al mismo tiempo, tiende a encontrarse una menor cantidad de neumocitos tipo I en las preparaciones impidiendo que la reabsorción del edema intraalveolar se realice de forma correcta e incitando a éste a organizarse mediante proliferación fibroblástica y fibrilar y aumentando aún más el grado de fibrosis.

El resumen de los datos encontrados por nosotros en nuestros casos, se encuentra en el cuadro de la Figura 12.

HUMANOS.- DATOS MORFOLOGICOS
PULMON DE BLEOMICINA, RESULTADOS

- 1.- MATERIAL PROTEINACEO EN LOS ALVEOLOS
- 2.- PRESENCIA EN LOS ALVEOLOS DE NEUMOCITOS II, Y FAGOCITOS
- 3.- MEMBRANA HIALINA
- 4.- ENSANCHAMIENTO FIBROSO DE LOS SEPTOS
- 5.- HIPERTROFIA DE CELULAS ALVEOLARES
- 6.- POCA INFILTRACION INFLAMATORIA INTERSTICIAL
- 7.- PROLIFERACION EPITELIAL E INCLUSO METAPLASIA ESCAMOSA
EN LOS BRONQUIOS MAS DISTALES
- 8.- AL M. E.
 - ⓐ AUMENTO DE LOS NEUMOCITOS GRANULARES (TIPO II)
 - ⓑ DEGRANULACION DISCRETA DE LOS MISMOS

4.2. RESULTADOS EN ANIMALES

4.2.1. Bioquímicos

Como ya exponíamos en el capítulo de propósitos, aunque el objetivo fundamental de esta tesis era analizar los cambios habidos en la función pulmonar y en la histología pulmonar subsecuentes a la Bleomicina, al haber elegido como método el sacrificio de los animales la extracción sanguínea completa por los medios descritos en el material y métodos, hemos tenido la oportunidad de analizar determinados aspectos de la bioquímica de dichos animales.

En las tablas de las Figuras 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20, vemos los resultados obtenidos en los animales que participaron en la experiencia incluida la serie control.

Se ha descartado utilizar los datos obtenidos de lácticodehidrogenasa, ya que la técnica de extracción de la sangre exigía la utilización de heparina sódica que altera los resultados de esta enzima por el método del SMA. Asimismo, debido a los valores bajos obtenidos de bilirrubina y de creatinina hemos decidido no utilizarlos, ya que su tratamiento estadístico plantearía problemas de significación no achacables a la diferencia entre series, sino precisamente a sus valores bajos. En la tabla de la Figura 21 observamos los valores obtenidos de media desviación típica y error típico de todos los datos analizados clasificados según la serie a la que pertenecen desde la normal, es decir, la que no ha recibido tratamiento, hasta la VI.

En la Figura 22 observamos un cuadro en el que están expuestas las "P" obtenidas al enfrentar cada una de las series tratadas frente -

RESULTADOS ANIMALES.- Bioquímica

| | | SERIE-N | | | | | | | | |
|-------|--------------------|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | RATA N° | 2 | 5 | 9 | 16 | 29 | 40 | 48 | 64 | 67 |
| mg % | Calcio total | 8,7 | 9,7 | 9,3 | 9,7 | 9,5 | 9,8 | 9,9 | 9,5 | 10 |
| mg % | Calcio Ionico | 5,76 | 6,64 | 6,00 | 5,89 | 6,18 | 6,03 | 5,89 | 6,05 | 6,16 |
| mg % | Fosforo | 5,7 | 6 | 5,8 | 7,4 | 7,3 | 7,2 | 6,5 | 5,8 | 6,9 |
| mg% | Colesterol | 65 | 85 | 900 | — | 70 | 90 | — | 85 | 80 |
| mg% | Glucemia | 130 | 150 | 180 | 160 | 150 | 190 | 230 | 195 | 170 |
| mg% | Urea | 36 | 38 | 40 | 40 | 38 | 48 | 36 | 32 | 38 |
| mg% | Acido urico | 1,5 | 1,1 | 1 | 1,4 | 1,8 | 1,6 | 1,6 | 2,5 | 1,9 |
| mU/ml | Fosfatasa Alcalina | 120 | 150 | 160 | 150 | 155 | 165 | 135 | 175 | 175 |
| mU/ml | T G O | 110 | 150 | 190 | 125 | 280 | 200 | 200 | 175 | 215 |
| g % | Proteinas totales | 6,1 | 6 | 6,5 | 7,1 | 6,3 | 7,4 | 7,5 | 6,9 | 7 |
| g % | Albumina | 3,11 | 2,76 | 3,25 | 3,69 | 3,22 | 3,45 | 3,60 | 3,26 | 3,57 |
| g % | Alfa - 1 | 0,67 | 0,54 | 0,65 | 0,68 | 0,50 | 0,88 | 0,89 | 0,83 | 0,66 |
| g % | Alfa - 2 | 0,49 | 0,42 | 0,39 | 0,40 | 0,42 | 0,30 | 0,46 | 0,34 | 0,40 |
| g % | Beta | 1,25 | 1,38 | 1,42 | 1,67 | 1,52 | 1,84 | 1,59 | 1,70 | 1,62 |
| g % | Gammaglobulina | 0,58 | 0,90 | 0,78 | 0,65 | 0,63 | 0,95 | 1 | 0,85 | 0,82 |
| | | N' | | | | | N'' | | | |

Figura 13

RESULTADOS ANIMALES.- Bioquímica

| | | SERIE I | | | | | | |
|-------|--------------------|---------|------|------|------|------|------|------|
| | RATA N° | 1 | 6 | 25 | 26 | 30 | 33 | 35 |
| mg % | Calcio | 8,5 | 9,3 | 1,01 | 10 | 10,3 | 10,2 | 10,1 |
| mg % | Calcio Ionico | 5,63 | 6,01 | 6,40 | 6,44 | 6,36 | 6,46 | 6,31 |
| mg % | Fosforo | 5,3 | 5,1 | 6,5 | 6,6 | 6,8 | 6,8 | 6,6 |
| mg % | Colesterol | 70 | 60 | 110 | 75 | 100 | 120 | 100 |
| mg % | Glucemia | 130 | 140 | 180 | 200 | 185 | 200 | 190 |
| mg % | Urea | 30 | 34 | 38 | 32 | 30 | 34 | 32 |
| mg % | Acido Urico | 1,5 | 1,5 | 3 | 1,6 | 2 | 2,3 | 2,2 |
| mU/ml | Fosfatasa Alcalina | 160 | 110 | 175 | 115 | 140 | — | 115 |
| mU/ml | TGO | 130 | 125 | 170 | 165 | 115 | 280 | 130 |
| g% | Proteinas totales | 5,6 | 6,3 | 6,8 | 6,5 | 6,9 | 6,7 | 6,9 |
| g% | Albumina | 3,25 | 3,28 | 3,33 | 3,27 | 3,57 | 3,38 | 3,45 |
| g% | Alfa 1 | 0,37 | 0,66 | 0,86 | 0,63 | 0,61 | 0,63 | 0,63 |
| g% | Alfa 2 | 0,39 | 0,31 | 0,26 | 0,36 | 0,40 | 0,56 | 0,40 |
| g% | Beta | 1,01 | 1,20 | 1,57 | 1,59 | 1,49 | 1,43 | 1,66 |
| g% | Gammaglobulina | 0,61 | 0,88 | 0,78 | 0,64 | 0,84 | 0,70 | 0,76 |

Figura14

RESULTADOS ANIMALES.- Bioquímica

| | | SERIE II | | | | | | | | | |
|-------|--------------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | RATA N.º | 3 | 7 | 13 | 14 | 15 | 21 | 22 | 27 | 31 | 34 |
| mg % | Calcio | 9,7 | 9,4 | 11 | 10,2 | 10 | 10,6 | 10,7 | 9,7 | 10 | 9,6 |
| mg % | Calcio Ionico | 6,36 | 6,12 | 6,26 | 6,15 | 6,21 | 6,62 | 6,65 | 6,26 | 6,54 | 6,21 |
| mg % | Fosforo | 6,4 | 6,6 | 8,8 | 7,1 | 6,5 | 7,9 | 7,5 | 6 | 7,8 | 7,1 |
| mg % | Colesterol | 60 | 1,25 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 75 | 100 | 80 |
| mg % | Glucemia | 160 | 140 | 170 | 200 | 205 | 190 | 145 | 160 | 185 | 160 |
| mg % | Urea | 38 | 36 | 48 | 46 | 40 | 34 | 32 | 32 | 38 | 36 |
| mg % | Acido Urico | 2,3 | 1,6 | 3,8 | 2,6 | 2,1 | 3,6 | 3 | 1,5 | 2,2 | 2,6 |
| mU/ml | Fosfatasa Alcalina | 135 | 130 | 150 | 140 | 140 | 165 | 130 | 125 | 175 | 225 |
| mU/ml | TGO | 115 | 125 | 160 | 125 | 120 | 270 | 165 | 165 | 200 | 190 |
| g % | Proteinas totales | 6,4 | 6,1 | 7,8 | 7 | 7,2 | 7,4 | 7,5 | 6,7 | 6,9 | 6,7 |
| g % | Albumina | 3,10 | 3,29 | 4,09 | 3,79 | 3,41 | 3,29 | 3,31 | 3,18 | 2,97 | 3,16 |
| g % | Alfa 1 | 0,68 | 0,61 | 0,97 | 0,83 | 0,89 | 0,90 | 0,91 | 0,59 | 0,57 | 0,63 |
| g % | Alfa 2 | 0,43 | 0,30 | 0,23 | 0,26 | 0,34 | 0,49 | 0,45 | 0,46 | 0,68 | 0,46 |
| g % | Beta | 1,33 | 1,28 | 1,80 | 1,43 | 1,67 | 1,81 | 1,96 | 1,70 | 1,87 | 1,67 |
| g % | Gammaglobulina | 0,85 | 0,61 | 0,68 | 0,68 | 0,89 | 0,90 | 0,85 | 0,78 | 0,81 | 0,78 |

Figura 15

RESULTADOS ANIMALES.- Bioquímica

| | | SERIE III | | | | | | | | | |
|-------|--------------------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | RATA N.º | 4 | 8 | 10 | 11 | 12 | 23 | 24 | 28 | 32 | 36 |
| mg % | Calcio | 10 | 9,2 | 8,5 | 9 | 9,5 | 9,6 | 9,8 | 9,8 | 10 | 9,2 |
| mg % | Calcio Ionico | 6,60 | 6,27 | 5,78 | 6,19 | 6,65 | 6,41 | 6,50 | 6,38 | 6,32 | 6,14 |
| mg % | Fosforo | 6,9 | 6,8 | 5,8 | 6,5 | 6 | 8 | 6,5 | 7 | 6,8 | 6,7 |
| mg % | Colesterol | 100 | 85 | 90 | 75 | 80 | 100 | 110 | 85 | 95 | 90 |
| mg % | Glucemia | 200 | 160 | 115 | 135 | 160 | 170 | 185 | 170 | 210 | 180 |
| mg % | Urea | 30 | 28 | 40 | 30 | 36 | 32 | 34 | 42 | 36 | 38 |
| mg % | Acido Urico | 3,4 | 3 | 1,6 | 2,7 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 1,6 | 2,5 | 2,2 |
| mU/ml | Fosfatasa Alcalina | 108 | 145 | 180 | 120 | 170 | 170 | 150 | 175 | 110 | 155 |
| mU/ml | T G O | 180 | 125 | 185 | 135 | 125 | 155 | 125 | 145 | 155 | 205 |
| g % | Proteinas totales | 6,3 | 5,7 | 5,8 | 6,1 | 5,9 | 6,5 | 6,7 | 6,1 | 6,7 | 6,7 |
| g % | Albumina | 3,24 | 2,91 | 2,80 | 2,68 | 2,54 | 2,87 | 2,89 | 3,29 | 3,41 | 2,81 |
| g % | Alfa -1 | 0,69 | 0,63 | 0,54 | 0,95 | 0,64 | 0,86 | 1,03 | 0,56 | 0,52 | 0,40 |
| g % | Alfa -2 | 0,50 | 0,31 | 0,37 | 0,19 | 0,37 | 0,41 | 0,32 | 0,32 | 0,44 | 0,40 |
| g % | Beta | 1,23 | 1,17 | 1,34 | 1,57 | 1,38 | 1,75 | 1,77 | 1,35 | 1,73 | 2,01 |
| g % | Gammaglobulina | 0,63 | 0,68 | 0,74 | 0,91 | 0,97 | 0,61 | 0,68 | 0,57 | 0,60 | 1,07 |

Figura 16

RESULTADOS ANIMALES.- Bioquímica

| | | SERIE IV | | | | | | | | | |
|-------|--------------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | RATA N° | 37 | 38 | 39 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 |
| mg % | Calcio | 10,7 | 9,5 | 10,3 | 10,5 | 10,2 | 10,2 | 10,3 | 10 | 11 | 9,9 |
| mg % | Calcio Ionico | 6,53 | 6,19 | 6,03 | 6,57 | 6,07 | 6,17 | 6,30 | 6,15 | 6,61 | 6,02 |
| mg % | Fosforo | 7,1 | 5,6 | 6,4 | 7,3 | 6,9 | 5,7 | 5,3 | 6,2 | 6,7 | 6 |
| mg % | Colesterol | 85 | 80 | 75 | 85 | 75 | 90 | 80 | 75 | 85 | 70 |
| mg % | Glucemia | 145 | 180 | 225 | 195 | 155 | 210 | 200 | 215 | 220 | 195 |
| mg % | Urea | 34 | 42 | 44 | 38 | 36 | 38 | 42 | 42 | 40 | 40 |
| mg % | Acido Urico | 3 | 1,6 | 1,8 | 2,5 | 1,8 | 1,7 | 1,4 | 2,8 | 2,5 | 2,4 |
| mU/ml | Fosfatasa Alcalina | 100 | 115 | 160 | 125 | 150 | 125 | 180 | 115 | 105 | 155 |
| mU/ml | T G O | 155 | 185 | 125 | 145 | 185 | 190 | 170 | 160 | 180 | 165 |
| g % | Proteinas totales | 7,2 | 6,8 | 7,6 | 6,8 | 7,5 | 7,1 | 6,7 | 7,1 | 7,3 | 7 |
| g % | Albumina | 3,60 | 3,05 | 3,88 | 3,47 | 3,75 | 3,72 | 3,75 | 3,55 | 3,72 | 3,70 |
| g % | Alfa - 1 | 1,10 | 0,68 | 0,94 | 0,82 | 0,71 | 0,84 | 0,53 | 0,94 | 0,58 | 0,88 |
| g % | Alfa - 2 | 0,23 | 0,52 | 0,33 | 0,42 | 0,45 | 0,40 | 0,43 | 0,23 | 0,51 | 0,27 |
| g % | Beta | 1,48 | 1,74 | 1,86 | 1,63 | 1,87 | 1,56 | 1,43 | 1,55 | 1,64 | 1,51 |
| g % | Gammaglobulina | 0,73 | 0,75 | 0,57 | 0,46 | 0,71 | 0,58 | 0,55 | 0,82 | 0,83 | 0,63 |

Figura 17

RESULTADOS ANIMALES.- Bioquímica

| | | SERIE V | | | | | | |
|-------|--------------------|---------|------|------|------|------|------|------|
| | RATA N° | 57 | 58 | 59 | 60 | 61 | 62 | 66 |
| mg % | Calcio | 10,2 | 10,3 | 10,5 | 10 | 9,7 | 9,5 | 10,2 |
| mg % | Calcio Ionico | 6,40 | 6,46 | 6,64 | 6,51 | 5,81 | 5,99 | 6,18 |
| mg % | Fosforo | 5,6 | 6,7 | 6 | 6,2 | 6,2 | 6,7 | 6,7 |
| mg % | Colesterol | 90 | 80 | 90 | 100 | 85 | 80 | 90 |
| mg % | Glucemia | 225 | 155 | 190 | 200 | 175 | 175 | 190 |
| mg % | Urea | 54 | 38 | 38 | 38 | 28 | 42 | 32 |
| mg % | Acido Urico | 3,4 | 2 | 2 | 3,2 | 1,5 | 2,1 | 1,8 |
| mU/ml | Fosfatasa Alcalina | 190 | 130 | 100 | 90 | 90 | 185 | 135 |
| mU/ml | TGO | 145 | 130 | 115 | 160 | 190 | 165 | 185 |
| g % | Proteinas totales | 7,2 | 7,3 | 7,3 | 7,2 | 7,2 | 7,1 | 7 |
| g % | Albumina | 3,31 | 2,80 | 3,20 | 2,92 | 3,79 | 3,30 | 3,73 |
| g % | Alfa 1 | 1,27 | 1,42 | 1,17 | 1,22 | 0,83 | 0,97 | 0,65 |
| g % | Alfa 2 | 0,36 | 0,38 | 0,31 | 0,34 | 0,42 | 0,40 | 0,43 |
| g % | Beta | 1,40 | 1,76 | 1,76 | 1,83 | 1,55 | 1,71 | 1,40 |
| g % | Gammaglobulina | 0,86 | 0,95 | 0,85 | 0,88 | 0,61 | 0,71 | 0,78 |

Figura 18

RESULTADOS ANIMALES.- Bioquimica

| | | SERIE VI | | | | | | | | | |
|-------|--------------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | RATA N° | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 63 | 65 |
| mg% | Calcio | 10,4 | 10 | 9,7 | 10,2 | 9,1 | 10 | 9,8 | 9,4 | 9,5 | 10 |
| mg% | Calcio Ionico | 6,03 | 6,13 | 5,95 | 6,18 | 5,77 | 6,25 | 6,34 | 5,84 | 5,68 | 5,90 |
| mg% | Fosforo | 6,3 | 6,8 | 5,7 | 5,4 | 6,2 | 5,6 | 6,4 | 5,4 | 7,1 | 6,5 |
| mg% | Colesterol | 125 | 95 | 90 | 80 | 90 | 75 | 65 | 85 | 95 | 110 |
| mg% | Glucemia | 150 | 120 | 165 | 185 | 135 | 175 | 170 | 180 | 155 | 180 |
| mg% | Urea | 34 | 34 | 34 | 36 | 38 | 36 | 36 | 40 | 42 | 38 |
| mg% | Acido urico | 2,3 | 2 | 1,2 | 1,9 | 2,7 | 3,3 | 2,4 | 2,4 | 1,7 | 1,2 |
| mU/ml | Fosfatasa Alcalina | 110 | 95 | 150 | 95 | 120 | 110 | 120 | 115 | 115 | 170 |
| mU/ml | T G O | 115 | 150 | 300 | 130 | 230 | 185 | 155 | 155 | 180 | 165 |
| g % | Proteinas totales | 7,8 | 7,5 | 7,2 | 7,4 | 7,5 | 7,3 | 6,7 | 7,1 | 7,5 | 7,8 |
| g % | Albumina | 3,90 | 3,46 | 3,55 | 3,61 | 3,10 | 3,32 | 3,16 | 3,46 | 3,70 | 3,74 |
| g % | Alfa -1 | 0,82 | 0,90 | 0,77 | 0,80 | 0,76 | 0,74 | 0,80 | 0,69 | 0,76 | 0,83 |
| g % | Alfa -2 | 0,51 | 0,61 | 0,39 | 0,43 | 0,27 | 0,46 | 0,34 | 0,38 | 0,34 | 0,39 |
| g % | Beta | 1,85 | 1,71 | 1,66 | 1,70 | 2,27 | 1,75 | 1,46 | 1,73 | 1,86 | 1,90 |
| g % | Gammaglobulina | 0,72 | 0,82 | 1,02 | 0,85 | 1,09 | 1,02 | 0,94 | 0,82 | 0,80 | 0,93 |

Figura 20

RESUMEN RESULTADOS.- BIOQUIMICA ANIMALES

| | N 9 datos | | | I 7 datos | | | II 10 datos | | | III 10 datos | | | IV 10 datos | | | V 7 datos | | | VI 10 datos | | |
|-------------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|----------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|----------------|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|----------------|-------------|--------------|
| | Media | Des. típica | Error típico | Media | Des. típica | Error típico | Media | Des. típica | Error típico | Media | Des. típica | Error típico | Media | Des. típica | Error típico | Media | Des. típica | Error típico | Media | Des. típica | Error típico |
| Calcio | 9,56 | 0,39 | 0,13 | 9,87 | 0,65 | 0,24 | 10,00 | 0,51 | 0,16 | 9,46 | 0,48 | 0,15 | 10,26 | 0,41 | 0,13 | 10,05 | 0,35 | 0,13 | 9,81 | 0,39 | 0,12 |
| Fósforo | 6,51 | 0,70 | 0,23 | 6,24 | 0,72 | 0,27 | 7,17 | 0,84 | 0,26 | 6,70 | 0,59 | 0,18 | 6,32 | 0,67 | 0,21 | 6,30 | 0,42 | 0,16 | 6,14 | 0,59 | 0,18 |
| Colesterol | 80,71 | 9,75 | 3,68 | 90,71 | 22,44 | 8,48 | 94 | 17,91 | 5,66 | 91 | 10,48 | 3,31 | 80 | 6,23 | 1,97 | 87,85 | 6,98 | 2,64 | 91 | 17,12 | 5,41 |
| Urea | 38,44 | 4,33 | 1,44 | 32,85 | 2,79 | 1,05 | 38 | 5,41 | 1,71 | 34,60 | 4,62 | 1,46 | 39,6 | 3,09 | 0,97 | 39,14 | 7,81 | 2,95 | 36,8 | 2,69 | 0,85 |
| Glucemia | 178,77 | 29,90 | 9,96 | 175 | 28,43 | 10,74 | 171,50 | 22,49 | 7,11 | 16,85 | 28,38 | 8,97 | 194 | 26,85 | 8,49 | 187,14 | 22,14 | 8,37 | 161,5 | 21,35 | 6,75 |
| Ac. Urico | 1,6 | 0,44 | 0,14 | 2,01 | 0,54 | 0,20 | 2,53 | 0,76 | 0,24 | 3,36 | 0,56 | 0,17 | 2,15 | 0,55 | 0,17 | 2,28 | 0,66 | 0,25 | 2,11 | 0,65 | 0,20 |
| Fosf. Alcalina | 153,88 | 17,98 | 5,99 | 135,83 | 27,09 | 11,6 | 151,50 | 30,37 | 9,60 | 148,50 | 26,77 | 8,46 | 133 | 26,58 | 8,40 | 131,42 | 42,29 | 15,98 | 120 | 23,33 | 7,37 |
| T G O | 182,77 | 51,11 | 17,03 | 159,28 | 57,11 | 21,58 | 163,50 | 47,84 | 15,13 | 153,50 | 28,28 | 8,94 | 166 | 20,52 | 6,48 | 155,71 | 27,60 | 10,43 | 176,50 | 53,64 | 16,96 |
| Proteinas totales | 6,75 | 0,52 | 0,17 | 6,52 | 0,42 | 0,16 | 6,97 | 0,49 | 0,15 | 6,25 | 0,36 | 0,11 | 7,11 | 0,28 | 0,08 | 7,18 | 0,09 | 0,03 | 7,38 | 0,31 | 0,09 |
| Albumina | 3,32 | 0,27 | 0,09 | 3,36 | 0,10 | 0,04 | 3,35 | 0,32 | 0,10 | 2,94 | 0,26 | 0,08 | 3,61 | 0,22 | 0,07 | 3,29 | 0,34 | 0,13 | 3,50 | 0,24 | 0,07 |
| Alfa 1 | 0,7 | 0,13 | 0,04 | 0,62 | 0,13 | 0,04 | 0,75 | 0,14 | 0,04 | 0,68 | 0,19 | 0,06 | 0,80 | 0,16 | 0,05 | 1,07 | 0,25 | 0,09 | 0,78 | 0,05 | 0,01 |
| Alfa 2 | 0,40 | 0,05 | 0,01 | 0,38 | 0,08 | 0,03 | 0,41 | 0,12 | 0,03 | 0,36 | 0,08 | 0,02 | 0,38 | 0,10 | 0,03 | 0,37 | 0,04 | 0,01 | 0,41 | 0,09 | 0,02 |
| Beta | 1,554 | 0,171 | 0,057 | 1,421 | 0,217 | 0,082 | 1,652 | 0,219 | 0,069 | 1,53 | 0,262 | 0,082 | 1,622 | 0,143 | 0,046 | 1,63 | 0,165 | 0,062 | 1,789 | 0,199 | 0,062 |
| Gamma | 0,795 | 0,139 | 0,046 | 0,744 | 0,092 | 0,034 | 0,783 | 0,092 | 0,029 | 0,746 | 0,165 | 0,052 | 0,663 | 0,117 | 0,037 | 0,805 | 0,106 | 0,040 | 0,901 | 0,111 | 0,035 |

-48-

Figura 21

RESULTADOS ESTADISTICOS.- BIOQUIMICA ANIMALES

| | I - N | II - N | III - N | IV - N | V - N | VI - N |
|--------------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Calcio | NO | < 0,01 | NO | < 0,005 | < 0,01 | NO |
| Fosforo | NO | NO | NO | NO | NO | NO |
| Colesterol | NO | NO | NO | NO | NO | NO |
| Urea | < 0,005 | NO | NO | NO | NO | NO |
| Glucemia | NO | NO | NO | NO | NO | NO |
| Acido Urico | NO | < 0,0025 | < 0,0025 | < 0,025 | < 0,01 | NO |
| Fosfatasa Alcalina | NO | NO | NO | NO | NO | < 0,005 |
| T G O | NO | NO | NO | NO | NO | NO |
| Proteinas totales | NO | NO | < 0,005 | NO | < 0,0005 | < 0,0025 |
| Albumina | NO | NO | < 0,0005 | < 0,0025 | NO | NO |
| Alfa - 1 | NO | NO | NO | < 0,025 | < 0,0025 | NO |
| Alfa - 2 | NO | NO | NO | NO | NO | NO |
| Beta | NO | NO | NO | NO | NO | < 0,0005 |
| Gammaglobulina | NO | NO | NO | < 0,01 | NO | NO |

Figura 22

a la serie N.

En las tablas de las Figuras 23 y 24, observamos los análisis realizados con los resultados de ácido úrico, gammaglobulina, calcio, -albúmina y proteínas totales comparándolos con las ratas de la serie normal que fueron sacrificadas en la misma época, es decir, para las series I, II y III, los cinco primeros datos de la serie N y para las series IV, V y VI los cuatro últimos datos de la serie N. El objeto de haber realizado este análisis específico viene dado por el intento de anular al máximo los posibles artefactos producidos por la curva de crecimiento de los animales de experimentación que, como veíamos en el capítulo de materiales y métodos no fueron sacrificados todos en la misma época. Estos nuevos análisis se han considerado sólo como orientativos y no se han utilizado como dogmáticos en las conclusiones.

Calcio : Observamos que comparando las series I, III y VI con los datos obtenidos en la serie N de ratas no tratadas no existe diferencia estadísticamente significativa para las cifras de calcio. Sin embargo, sí existe diferencia significativa al comparar las series II, -IV y V. Cuando las series I, II y III son comparadas frente a los cinco primeros datos de la serie N, seguimos obteniendo los mismos resultados que al ser comparada con el total de la serie N. (Ver tabla de las Figuras 22 y 23).

Calcio iónico : Las medidas de calcio iónico no se han obtenido de forma directa con espectrofotometría de absorción atómica, sino que se han calculado a partir de la fórmula :

$$(8 \times \text{Albúmina} + 2 \times \text{Globulina} + 3 = \text{Ca unido a las proteínas})$$

ACIDO URICO (I, II y III frente a 5 primeros datos de N)
(valor de 2p)

| | | |
|----------|-------------|---------------|
| I - N' | 2 p < 0,001 | Significativo |
| II - N' | 2 p < 0,001 | Significativo |
| III - N' | 2 p < 0,001 | Significativo |

CALCIO (I, II y III frente a 5 primeros datos de N)
(valor de 2p)

| | | |
|----------|-------------|------------------|
| I - N' | 2 p > 0,025 | No significativo |
| II - N' | 2 p < 0,005 | Significativo |
| III - N' | 2 p > 0,6 | No significativo |

GAMMAGLOBULINA (I, II y III frente a 5 primeros datos de N)
(valor de 2p)

| | | |
|----------|-----------|------------------|
| I - N' | 2 p > 0,5 | No significativo |
| II - N' | 2 p > 0,2 | No significativo |
| III - N' | 2 p > 0,5 | No significativo |

Figura 23

ALBUMINA (I,II y III frente a 5 primeros y IV,V y VI frente a 4 ultimos)

(valor de 2p)

| | I - N' | II - N' | III - N' | IV - N" | V - N" | VI - N" |
|---------------|--------|---------|----------|---------|---------|---------|
| 2 p | > 0,2 | > 0,2 | < 0,005 | < 0,05 | < 0,025 | > 0,7 |
| Significativo | NO | NO | SI | SI | SI | NO |

PROTEINAS TOTALES (I,II y III frente a 5 primeros y IV,V y VI frente a 4 ultimos)

(valor de 2p)

| | I - N' | II - N' | III - N' | IV - N" | V - N" | VI - N" |
|---------------|--------|---------|----------|---------|--------|---------|
| 2 p | > 0,5 | < 0,01 | > 0,5 | > 0,5 | > 0,99 | > 0,2 |
| Significativo | NO | SI | NO | NO | NO | NO |

Figura 24

CALCIO IONICO mg %

| | I | II | III | IV | V | VI | N |
|------------------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Media | 6,230 | 6,338 | 6,324 | 6,264 | 6,327 | 6,007 | 6,077 |
| Desviación St. | 0,282 | 0,185 | 0,239 | 0,215 | 0,322 | 0,205 | 0,232 |
| Error St. | 0,106 | 0,058 | 0,075 | 0,068 | 0,121 | 0,064 | 0,077 |
| "t" frente a N. | 1,437 | 3,366 | 3,185 | 2,413 | 2,156 | 0,897 | — |
| "2p" frente a N. | > 0,10 | <0,005 | <0,01 | <0,05 | <0,05 | > 0,4 | — |
| Significación | NO | SI | SI | SI | SI | NO | — |

Diferencias con los grupos N y N"

| | I-N' | II-N' | III-N' | IV-N' | V-N' | VI-N' |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| "t" | 0,994 | 1,784 | 1,682 | 6,355 | 8,275 | 1,459 |
| "2p" | > 0,30 | > 0,05 | > 0,01 | <0,005 | <0,001 | > 0,10 |
| Significación | NO | NO | NO | SI | SI | NO |

Figura 25

que nos daba el porcentaje del calcio plasmático total que iba unido a las proteínas (60). Restando esta cifra a la cifra total de calcio plasmático, hemos obtenido el calcio iónico y hemos valorado este dato con objeto de anular las posibles interferencias que en la bioquímica y en la fisiología de estos animales tuvieran las diferentes cantidades de proteínas plasmáticas y específicamente de albúmina que como vemos en los cuadros de las Figuras 22 y 24 pueden influir en la valoración del calcio y sus consecuencias fisiológicas. En el cuadro de la Figura 25, vemos como se mantienen las diferencias significativas entre las series II, IV y V con la serie normal, pero que introducimos un nuevo factor al observar como la serie III tiene un calcio iónico elevado y además superior con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,01$) a la serie control o serie normal.

Fósforo : No hay diferencias estadísticamente significativas entre cada una de las series y la serie normal.

Colesterol : Tampoco en los datos de colesterol observamos diferencias estadísticamente significativas entre la serie normal y cada una de las series tratadas.

Urea : Al comparar las ureas de las series tratadas con la serie normal, sólo observamos que la serie I tiene una urea significativamente menor de forma estadística con la serie N, siendo el resto de las series similares a la serie normal.

Glucemia : En las cifras de glucemia no encontramos diferencias significativas desde el punto de vista estadístico entre la serie normal y las series tratadas.

Acido úrico : Con respecto a este dato, vemos que las series que han sido tratadas (II, III, IV y V) presentan un valor de ácido úrico significativamente superior desde el punto de vista estadístico a la serie normal, no siendo así en el caso de la serie I y VI. Sin embargo, al analizar las tres primeras series frente a los 5 primeros datos de la serie de ratas normales, observamos que tanto la I como la II y la III son diferentes estadísticamente de forma significativa de la serie de ratas normales (Figura 23).

Fosfatasa alcalina : Respecto a esta enzima, encontramos que no hay diferencias significativas entre las series tratadas y la serie normal, excepto en la serie VI que es estadísticamente inferior el valor de fosfatasa alcalina al de la serie normal.

Transaminasa glutámico-oxalacética : No hay diferencias estadísticamente significativas entre la transaminasa glutámico-oxalacética de la serie de ratas normales, es decir, no tratadas, con el resto de las series.

Proteínas totales : No hay diferencias significativas entre la serie I, II y IV con respecto a las series normales, y sí aparece significación en las series III, V y VI. Sin embargo, al analizarlas frente a los datos de ratas normales sacrificadas en la misma época, vemos que estas diferencias que en principio eran significativas no siguen siendo así. (Figura 24).

Albumina : De la misma manera que vemos en la serie de proteínas totales, tampoco hay diferencias significativas entre las series I, II, V y VI y la serie de ratas normales, pero sí vemos significación entre las series III y IV con la serie de ratas normales. Al realizar -

los estudios estadísticos frente a las cinco primeras o cuatro últimas ratas de la serie N, observamos que exactamente igual que sucedía con las proteínas totales, solamente la serie III, es decir, la que está tratada con Bleomicina y esteroides, conserva los valores de albúmina y de proteínas totales significativamente inferiores desde el punto de vista estadístico a la serie de ratas normales. (Figura 24).

Alfa 1 globulina : No hay diferencias significativas entre las series I, II, III y VI con respecto a las normales, y sí hay una "P" inferior a 0'05 en las series IV y V.

Alfa 2 globulina : No hay diferencias significativas en ninguna de las series con respecto a la serie normal. Es conveniente aclarar aquí que los datos de alfa 1 y alfa 2 globulinas son excesivamente bajos y, por lo tanto, de difícil manejo mediante las técnicas estadísticas utilizadas en este caso, por lo que no damos valor trascendente a estos hallazgos.

Beta globulina : No hay significación estadística en las diferencias entre las series I, II, III, IV y V con respecto a la normal, y sí obtenemos una "P" inferior a 0'05 en la serie VI con respecto a la serie N.

Ganma-globulina : No hay diferencias estadísticamente significativas entre las series I, II, III, V y VI con respecto a la serie normal y sí encontramos significación en la serie IV con respecto a la serie normal.

4.2.2. Clínicos

Respecto a otros cambios clínicos observados en las ratas sometidas al experimento planteado, hay que añadir que tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los pesos y a su variación con respecto al paso del tiempo. Entre los datos que encontramos de manera espontánea es que algunos de los animales - de las series que recibieron la droga sufrieron pérdida del pelo, - dejando incluso en algunas zonas claras áreas de alopecia, y sobre todo una gran facilidad o tendencia a la caída del pelo al ser manipuladas para la inyección, al contrario de las ratas a las que se les ponía sólo agua bidestilada que no presentaron estas alteraciones.

Pese a las dificultades existentes en analizar los datos clínicos que pudieran sugerir enfermedad pulmonar en los animales de experimentación tratados, no encontramos disnea u otros signos o síntomas - que nos indicaran esta posibilidad.

No se realizó hematocrito de las muestras de sangre procedentes - de las ratas tratadas.

Tampoco se realizaron placas radiográficas de los animales tratados con el objeto de ver la evolución radiológica durante el experimento.

4.2.3. Aspectos Morfológicos

A) Extrapulmonares :

Piel: No ha habido cambios estructurales de la piel en las ratas tratadas en relación con las que no recibieron terapéutica. No se pue-

den asegurar cambios en la ultraestructura celular, ya que no se hicieron tomas para microscopía electrónica. (Figura 26).

Músculo: De igual modo, no ha habido cambios ni en el número ni en la calidad de las fibras musculares en las ratas tratadas mediante el estudio microscópico. (Figura 26).

Riñón: Todas las muestras analizadas mediante microscopía óptica y tinción con hematoxilina-eosina fueron normales. En ningún momento se encontraron lesiones glomerulares de esclerosis ni depósitos en alguno de los compartimentos del glomérulo. Las membranas basales, y en general el capilar glomerular estaban indemnes. En el espacio intersticial y en los túbulos tampoco se encontraron lesiones, no había vacuolización celular ni formación de cilindros en el interior de los túbulos. Los vasos renales eran normales. En las vías urinarias altas, pelvis renal, el epitelio era normal y no se encontraron zonas hemorrágicas. (Figuras 27, 28 y 29).

Hígado: Las muestras estudiadas de hígado mostraron una arquitectura rigurosamente normal. No se encontraron zonas hemorrágicas ni acúmulos inflamatorios. No había fibrosis. Los canalículos biliares no tenían dilataciones ni otras alteraciones microscópicas visibles a la óptica. La vascularización estaba conservada y con características normales. (Figuras 30 y 31).

B) Pulmonares:

Siguiendo las técnicas descritas en los métodos, obtuvimos las piezas pulmonares de los animales de experimentación, exponiendo en este Capítulo los hallazgos obtenidos de su estudio microscópico -



Fig 26

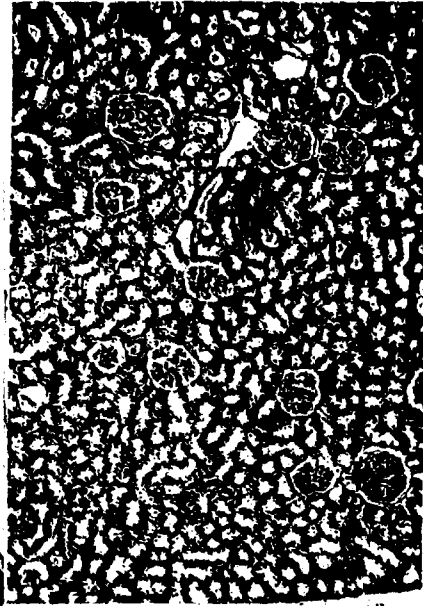


Fig 27

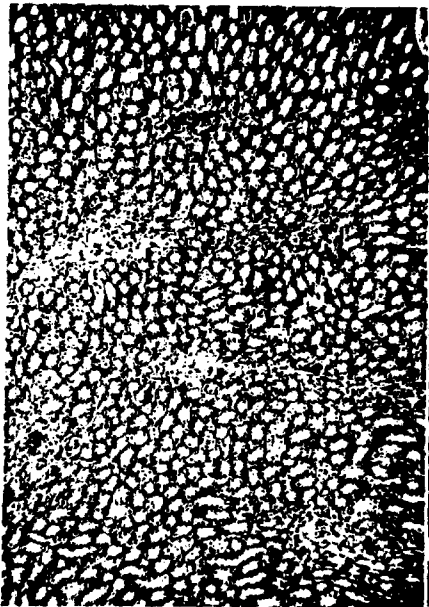


Fig 28

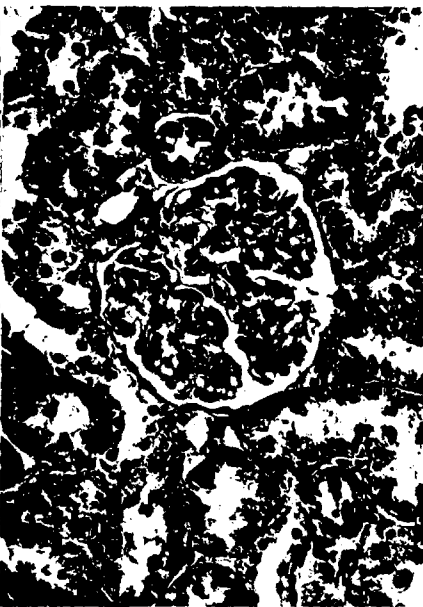


Fig 29

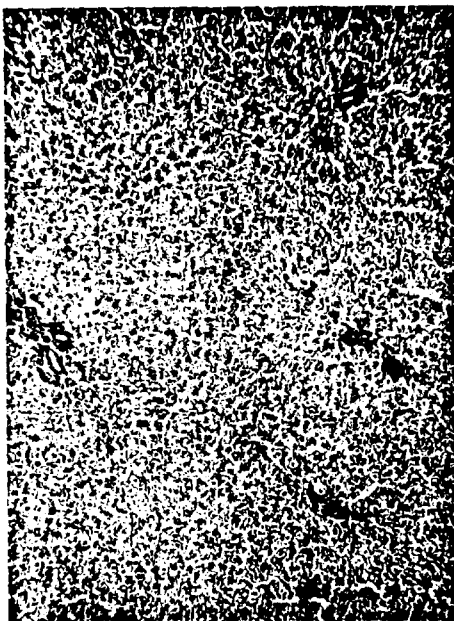


Fig 30

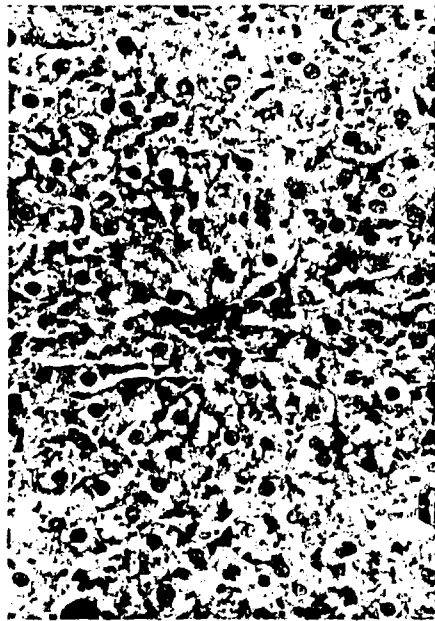


Fig 31

que se enuncian según las últimas tendencias de Clasificación de las lesiones pulmonares Intersticiales (45 y 106).

a) Microscopía Óptica

Serie N: En las ratas pertenecientes a la serie que no había sido tratada en ningún momento con BLM y sí sólo con el disolvente, las piezas pulmonares no mostraron en ningún caso lesiones que pudiéramos objetivar con las técnicas de estudio histológico utilizadas. Los vasos fueron normales tanto en la morfología de la pared como en el espacio perivascular. Los septos no mostraban engrosamientos así como los bronquios de cualquier tamaño (Figura 32). En la figura 33 se muestra el aspecto macroscópico de los pulmones después de la insuflación.

Serie I: En la morfología pulmonar de esta serie se objetivó congestión evidente de las zonas estudiadas, así como la aparición de una imagen de infiltración perivascular focal o difusa que hemos dividido en dos grupos:

- 1) Un estadio poco florido en el que los vasos aparecen rodeados de un infiltrado inflamatorio de leucocitos polinucleares de todo tipo entre los que predominan eosinófilos y mastocitos inmersos en un ambiente edematoso perivascular pero sin comprometer aún la pared vascular (Figura 34).
- 2) Una segunda alteración, asimismo de vasculitis, muestral el mismo componente inflamatorio polinuclear eosinófilos y de mastocitos en cantidad aún mayor, sustituyendo al edema y formando un manguito perivascular celularmente denso. Con cierta frecuencia los elementos inflamatorios afectan a la pared vascular en la cual

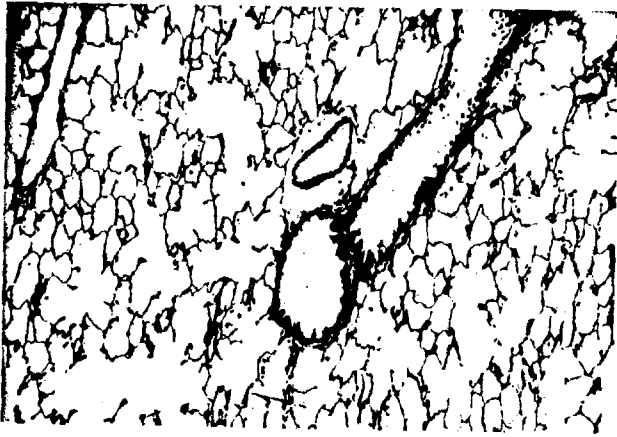


Fig 32.



Fig.33.

no se han observado en momento alguno fenómenos de necrosis fibrinoide (Figura 35).

Estas lesiones descritas se mezclan con los fenómenos de congestión y hemorragias alveolares de forma focal o difusa afectando a los animales en una u otra forma e incluso de las dos formas al mismo tiempo, coexistiendo los tipos descritos en 1 y 2 (Figura 36).

Serie II: En estos animales encontramos las lesiones que aparecen en la serie anterior, pero quizás en mayor grado no de intensidad, pero sí de cantidad de zonas afectadas y de su evidencia morfológica. Aparece en esta serie algún animal (Ratas 4 y 7 de la serie) en el que ya observamos fenómenos de engrosamiento de la pared vascular con hipertrofia de la capa muscular (Figura 37). Seguimos encontrando zonas de hemorragia y congestión siempre en relación con los vasos afectados en todas las preparaciones. Los septos están conservados y no hay lesiones a otros niveles del parénquima pulmonar.

Serie III: Observamos en estos animales un retroceso en orden a las lesiones encontradas, de tal modo, que aunque los infiltrados perivasculares aparecen en todas las piezas excepto en una (Rata 3 de la serie), los fenómenos de anginitis descritos son menos intensos en cantidad de zonas afectas conservando de forma mucho más evidente la normal arquitectura pulmonar.

Serie IV: Además de las lesiones de anginitis que monótonamente se repiten en todas las series comenzamos a observar imágenes de alteraciones que indican ya un compromiso alveolar como son los fenómenos de descamación de neumocitos tipo II, que pueden coexistir

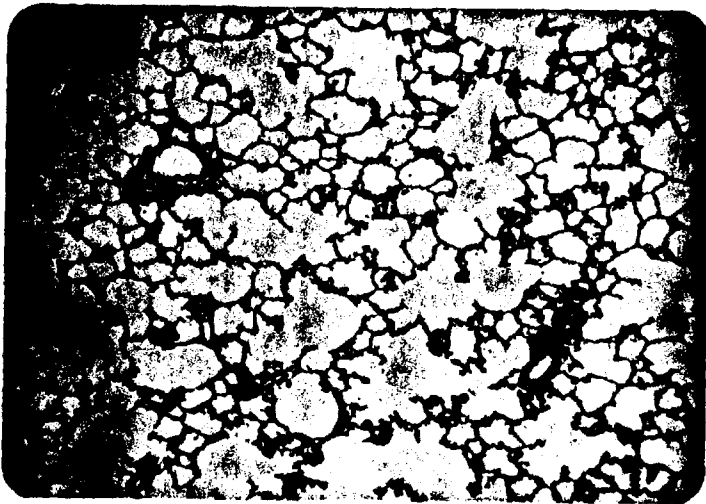


Fig. 34

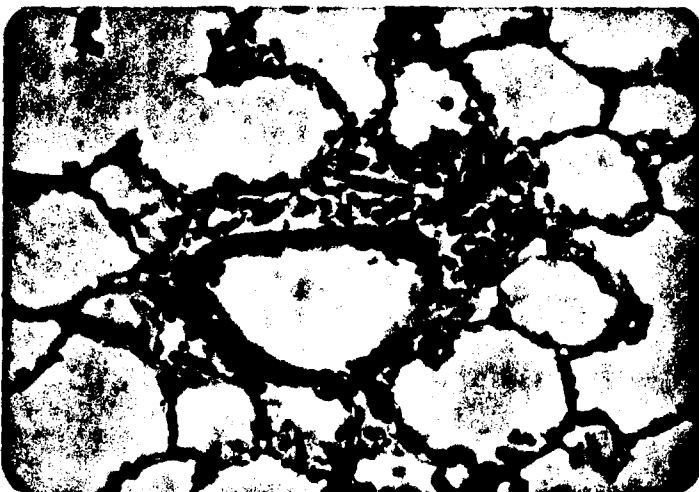


Fig 35

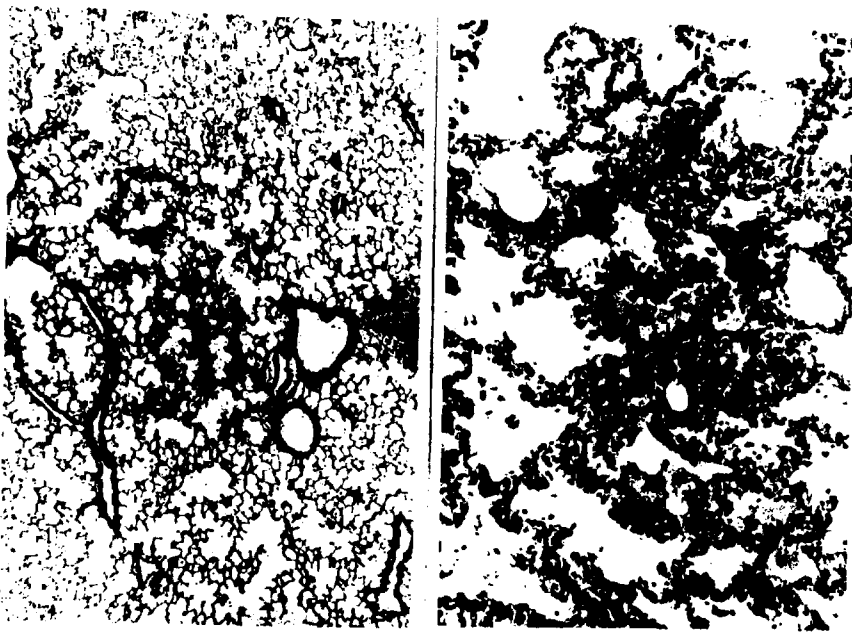


Fig 36



Fig 37

con alguna célula inflamatoria y con signos focales de hemorragia - intraalveolar que salpican el parénquima estudiado focalmente (Figuras 38 y 39). Del mismo modo, es muy evidente la congestión parenquimatosa a todos los niveles, especialmente en aquellos que - muestran las lesiones descritas. En los animales 7 y 9 de la serie aparecen lesiones más intensas que muestran un patrón de engrosamiento de los septos alveolares con desestructuración casi completa del parénquima (Figura 40) y signos inflamatorios en su interior que al ser tratados con el Tricómico de Masson, aunque no se pueden objetivar zonas de aumento de colágeno, sí observamos que este engrosamiento corresponde a áreas de edema intersticial muy marcado (Figura 41).

Serie V : En todos los animales de esta serie se repiten las lesiones descritas. Hay fenómenos de angeitis, pero en ellos predomina focalmente las áreas de desestructuración parenquimatosa por edema con engrosamiento de los septos y pérdida de la arquitectura habitual. Así como zonas de descamación muy importantes también fácilmente objetivable con la técnica de Masson.

Serie VI : Dos de los animales de esta serie muestran imágenes - histológicas del pulmón prácticamente normales y superponibles a - las encontradas en la serie N. En el resto de las ratas han desaparecido los fenómenos de angeitis que veíamos en series anteriores y persisten las imágenes de descamación alveolar de Neumocitos, - sobre todo tipo II. Del mismo modo, volvemos a encontrarnos con - los fenómenos de desestructuración descritos sin que aún aparezcan aumentos de la colágena objetivables en las preparaciones.

Como denominador común para todas las ratas estudiadas, aparecen los fenómenos de congestión y hemorragia agrupados de forma focal

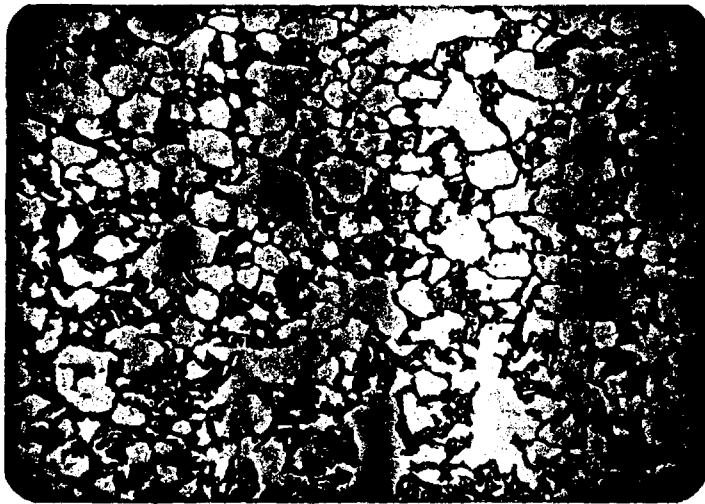


Fig. 38

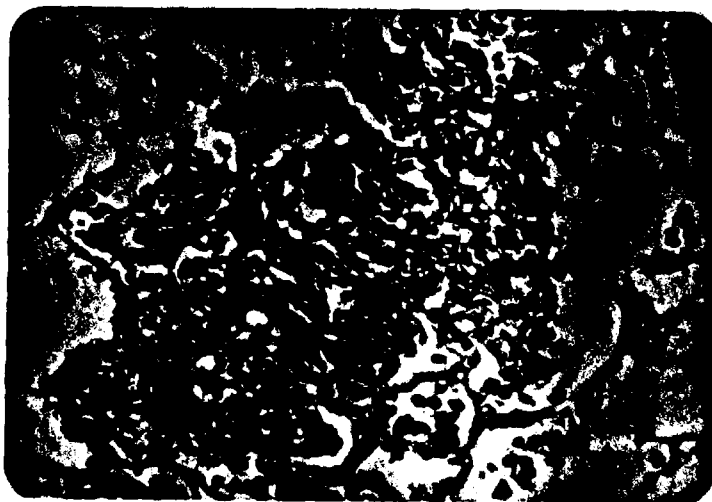


Fig. 39

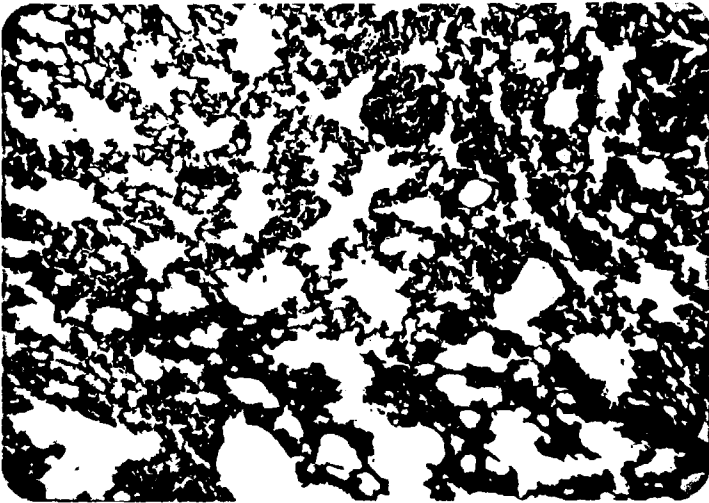


Fig. 40

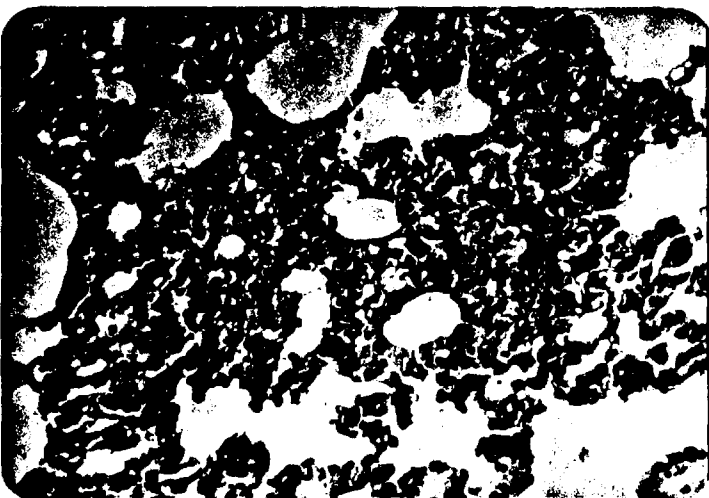


Fig. 41



Fig. 42



Fig 43

pero siempre en relación con las estructuras vasculares afectas -
(Figura 42). Se ha encontrado algunas imágenes de infarto hemorrá-
gico (Figura 43) e incluso alguna lobar.

b) Microscopía Electrónica

Se confirman los hallazgos ópticos de congestión y se descubren dos
tipos de lesiones :

- 1) A nivel capilar : El endotelio muestra claros signos de "Híncha-
zón" superficial citoplasmática, con un aumento evidente de las
vesículas de picnocirosis a todos los niveles. Estos capilares -
descansan sobre una membrana basal que en muchas zonas apa-
rece como difuminada pero sin márgenes de rotura ni depósitos
de ningún tipo en las vecindades (Figura 44).
- 2) En las arteriolas llama poderosamente la atención la extraordina-
ria vacuolización del citoplasma endotelial (Figura 45) en algu-
nas zonas de aspecto "balonizante", que protuye en la luz vascu-
lar disminuyendo su calibre y alternando con áreas en las que -
aparecen figuras de carácter "mielínico" bastante degeneradas.
No existen alteraciones de la lámina basal y sólo entre los fascí-
culos de las capas media y adventicia se observan infiltraciones
de leucocitos eosinófilos y mastocitos (Figura 46) confirmando -
también los hallazgos de la microscopía óptica. En la adventicia,
son también llamativos los signos de vacuolización celular.

Tanto a nivel del citoplasma endotelial como arteriolar e incluso en
las células de la capa media y adventicia de esta última estructura -
hemos visto constantemente la presencia de gránulos redondeados -



Fig 44

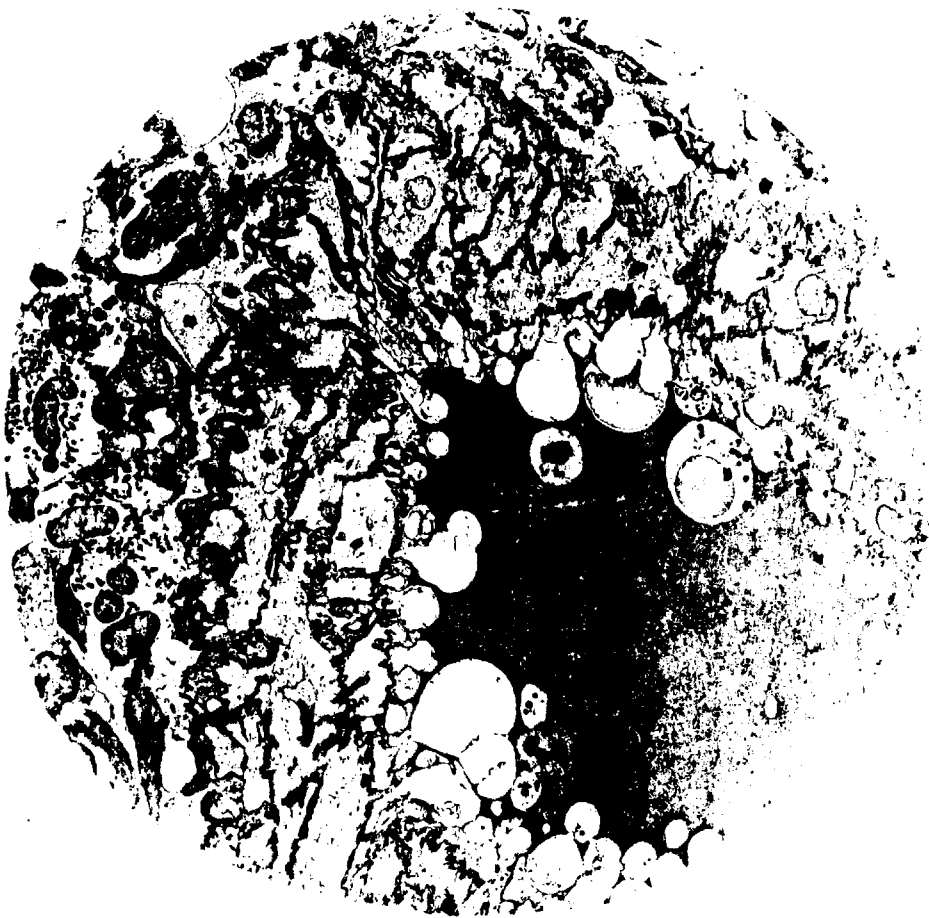
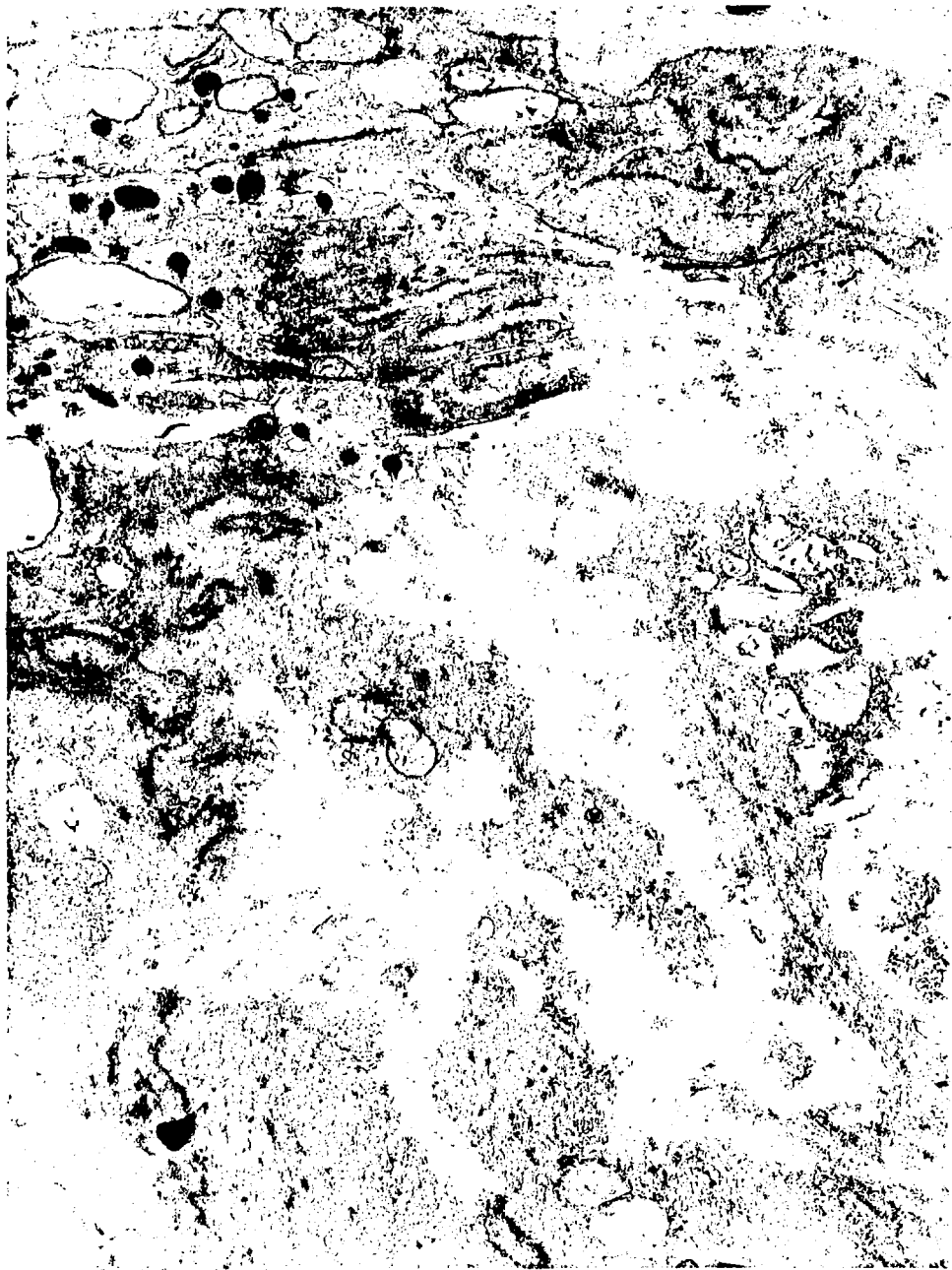


Fig 45



Fig. 46



ópticamente densos, sin estructura cristalina alguna en su interior (Figura 47), a veces rodeados de una única membrana. La génesis de estos gránulos es difícil de inferir por la morfología. Sin embargo, nos ha sugerido la posibilidad de un origen mastocítico y menos probablemente polinuclear eosinófilo por desintegración celular.

c) La inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia muestra negatividad absoluta de captación del colorante fluorescente en las ratas de la serie normal.

En las ratas de las series A y B sometidas a terapéutica con BLM - vemos los siguientes datos :

- No se aprecia fijación a nivel de los alveolos pulmonares ni en la pared de los mismos (membrana basal).
- Los bronquios no muestran fijación del colorante.
- Los vasos no muestran fijación del colorante.
- Sólo se objetiva positividad de captación del colorante fluorescente bien en aglomerados celulares o bien en células sueltas en los infiltrados inflamatorios que rodean a los vasos observándose captación a nivel citoplasmático en elementos de hábito plasmocitoide.

Las alteraciones morfológicas pulmonares que han sido encontradas en nuestros animales de experimentación se encuentran plasmadas en los cuadros de las Figuras 48, 49 y 50.

RESULTADOS MORFOLOGIA PULMONAR ANIMALES.-

| RATAS | SERIE - N | SERIE - I | SERIE - II | SERIE - III | SERIE - IV | SERIE - V | SERIE - IV |
|-------|---------------------|-----------------------------|----------------|----------------------------|---|------------------------------|---|
| 1 | N. A. | H. I. P. (CONGESTION) | I. P. | I. P. (POCA AFECTACION) | I. P. D. A. (CONGESTION) | I. P. D. A. E. I. | D. A. E. I. |
| 2 | N. A. | H. | I. P. | I. P. (POCA AFECTACION) | I. P. D. A. (LIGERA) | I. P. E. I. | E. I. D. A. |
| 3 | N. A. | I. P. | I. P. H. V. | N. A. | I. P. D. A. (LIGERA) | I. P. D. A. E. I. | D. A. E. I. |
| 4 | N. A. | I. P. | I. P. H. V. | I. P. (SUBPLEURALES) | I. P. D. A. | I. P. D. A. | D. A. (NEUMONIA) |
| 5 | N. A. | I. P. (POCA AFECTACION) | I. P. H. | I. P. | I. P. D. A. | I. P. D. A. E. I. | D. A. E. I. |
| 6 | N. A. | I. P. I. H. | I. P. | I. P. (SUBPLEURALES) | I. P. D. A. | I. P. (EN ZONAS) E. I. | D. A. (LIGERA) (PRACTICAMENTE N. A.) |
| 7 | N. A. | I. P. | I. P. H. V. | I. P. (POCA AFECTACION) | I. P. H. V. E. I. D. A. (LIGERA) | I. P. D. A. | I. P. H. D. A. E. I. |
| 8 | N. A. (NEUMONIA) | I. P. | I. P. | I. P. (POCA AFECTACION) | I. P. (POCA AFECTACION) | | E. I. |
| 9 | N. A. | I. P. | | I. P. | E. I. | | N. A. |
| 10 | N. A. | | | | I. P. D. A. | | |

INFILTRADOS PERIVASCULARES I. P.

HEMORRAGIAS H.

INFARTO HEMORRAGICO I. H.

DESCAMACION Y/O OCUPACION ALVEOLAR D. A.

ENGROSAMIENTO PARED VASCULAR H. V.

E. I. EDEMA INTERSTICIAL MARCADO

NORMALES N. A.

Figura 48

RESULTADOS MORFOLOGIA PULMONAR ANIMALES Resumen.

| SERIE | ANGEITIS | CONGESTION | HEMORRAGIAS INFARTO HEMO- RRAGICO. | DESCAMACION Y/O OCUPACION ALVEOLAR. | EDEMA INTERSTI- CIAL MARCADO | OTROS DATOS |
|------------------|----------|------------|--|---|---------------------------------|---|
| N ₁₀ | NO | NO | NO | NO | NO | 1 NEUMONIA |
| I ₉ | SI | NO | SI | NO | NO | VASOS PEQUEÑOS |
| II ₇ | SI | SI | SI | NO | NO | ENGROSAMIENTO DE PARED VASCULAR |
| III ₉ | SI | SI | NO | NO | NO | 1 RATA NORMAL AFECTACION SUBPLEURAL |
| IV ₁₀ | SI | SI | SI | SI | ALGUNOS (2) | ENGROSAMIENTO DE PARED VASCULAR |
| V ₇ | SI | SI | NO | SI | SI | |
| VI ₉ | SOLO 1 | SI | NO | SI | SI | 2 RATAS SIN APENAS AFECTACION |

Figura 49

ALTERACIONES MORFOLOGICAS ANIMALES.- PULMON

1.- CAMBIOS VASCULARES

- INFILTRACION PERIVASCULAR DE EOSINOFILOS Y MASTUCITOS
(Angeitis de + o ++)
- ENGROSAMIENTO DE LA PARED

2.- CAMBIOS GENERALES

- CONGESTION
- HEMORRAGIA
- INFARTOS HEMORRAGICOS

3.- CAMBIOS ALVEOLARES

- DESCAMACION Y/O OCUPACION ALVEOLAR
(Material proteinaceo y neumocitos)
- EDEMA INTERSTICIAL CON DESESTRUCTURACION

Figura 5●

CAPITULO 5

DISCUSION

5.1. HALLAZGOS SISTEMICOS

5.1.1. Datos Clínicos

Al analizar los datos clínicos obtenidos de nuestros casos y de la -
revisión efectuada a la literatura (13, 43, 96, y 144), vamos a des-
tacar las siguientes alteraciones encontradas :

- A) Eritema que aumenta con las dosis sucesivas
- B) Eritema que cura espontáneamente para reaparecer, reducido, -
al reanudar las inyecciones, pero con peor evolutividad.
- C) Lesiones dérmicas que aparecen en las mismas localizaciones -
que aparecieron cuando se puso Bleomicina al introducir en la -
terapéutica otros preparados como Busulfan, es decir, reaccio-
nes dérmicas que parecen cruzadas con otros preparados.
- D) Fiebre, escalofríos, náuseas, vómitos y anorexia que van dismi-
nuyendo progresivamente conforme se van administrando inyeccio-
nes sucesivas.
- E) Rash morbiliforme y prurito en un 10%, por lo menos, de los ca-
sos.
- F) Tos como inmediata respuesta a la inyección.
- G) Cambios de tipo inespecífico observados en los tests de latex, en
los fenómenos Le y en los anticuerpos antinucleares en pacientes
que, previa a la terapéutica, tenían estas exploraciones positi-
vas.

- H) Episodios de artritis agudas inespecíficos en los pacientes tratados con Bleomicina.
- I) Mejoría e incluso anulación de muchos de los signos descritos, - así como de los síntomas, al administrar al mismo tiempo que la Bleomicina algún preparado antihistamínico.

Ante todas las características inducidas por la terapéutica bleomícnica expuestas anteriormente, podemos observar que todo lo que antecede se puede encuadrar dentro de los llamados fenómenos inmunológicos. Entendiendo tales en un concepto amplio que engloba todos los mecanismos alérgicos. Intentando encuadrar los datos citados - en algunos de los tipos de hipersensibilidad descritos por Gell y - Coombs, es decir, tipo 1 anafiláctico, tipo 2 citotóxico, tipo 3 mediado por complejos, tipo 4 hipersensibilidad tardía, nos encontramos con que cada uno de ellos pueden ser clasificados en alguno de estos tipos, pero que todos en conjunto no podemos incluirlos dentro de uno de ellos. Sin embargo, la gran mayoría pueden encuadrarse dentro de los mecanismos por anticuerpo que describen Reeves y Holborow (103), y más directamente dentro del tipo reagínico que correspondería al tipo 1 de Gell y Coombs, es decir, que la IgE o posiblemente la IgG₄ serían quienes jugarían un importante papel en el desencadenamiento de los síntomas clínicos que hemos descrito con anterioridad.

Sin embargo, como citábamos en la revisión de los aspectos básicos de la Bleomicina y aunque ésta no produce "in vivo" efectos inmunosupresores, su actuación como antibiótico depende de su capacidad como anti-DNA y como inhibidor de la síntesis de proteínas a nivel celular, y se ha comunicado una posibilidad de alteración inhibitoria preferentemente de las células T (103) que podría explicar las alte-

raciones descritas en últimos lugares, (afectación de las respuestas inmunológicas y respuestas previas, artritis agudas), y que no pueden ser encuadradas dentro del tipo de hipersensibilidad reagf-nica que comentábamos antes, sino que pasaríamos a los mecanis—mos celulares de hipersensibilidad para tratar de explicar estos fe—nómenos.

Por otro lado, sabemos que la concentración de la Bleomicina una — vez inyectada alcanza niveles superiores en piel (24) y en pulmón — (144) a los que llega en otros tejidos del organismo, esto nos indica ría la mayor actividad biológica del preparado a nivel de estos dos órganos y, por lo tanto, no solamente en orden a su efecto terapéu—tico deseado, sino también en orden a las manifestaciones secunda—rias sería mayor la respuesta de la piel y del pulmón que la de otros órganos del cuerpo (134).

Conviene citar en este momento que algunas de las manifestaciones secundarias que podemos achacar a la Bleomicina vienen modifica—das por dos factores fundamentales :

- 1º) La presencia de la Bleomicina en ciclos de terapéutica combina—da, por lo que algunos signos y síntomas que aparecen en los — enfermos no son totalmente achacables a este preparado, sino — que pueden ser secundarios a la actuación de otros preparados que le acompañan en estas combinaciones descritas.
- 2º) Al utilizar la Bleomicina en enfermedades tumorales humanas — introducimos otro factor de error que es la propia evolución del tumor o de la enfermedad tumoral que tiene el enfermo. Esto es, que algunos de los síntomas y signos aparecidos pueden ser pro—ducto de la progresión de la enfermedad tumoral y no de la tera—

péutica que se está realizando.

En ninguno de nuestros pacientes encontramos datos de afectación - que nos hicieran sugerir la posibilidad de enfermedad de otros órga- nos, si bien es verdad que por lo anteriormente descrito achacamos la mayor parte de las alteraciones que tuvieron al progreso de la en- fermedad tumoral de base, siempre que la documentación complemen- taria de los enfermos lo sugiriese.

Respecto a los animales, no se observaron cambios clínicos de im- portancia en el curso de la fase experimental ni en cuanto a la pérdi- da de peso con síntoma inespecífico de enfermedad ni en cuanto a - otros datos que hemos descrito en la patología humana. Como único dato relativamente valorable, encontramos la pérdida de pelo e inclu- so aparición de zonas de alopecia en algunos animales, sobre todo - al ser manipulados con la mano que achacamos a la afectación direc- ta de la Bleomicina sobre la piel (24 y 134) en mayor grado que so- bre otros órganos que impidió un desarrollo normal de los folículos pilosos de los animales en experimentación. Tampoco encontramos - en el estudio macroscópico de los animales en el momento de la ne- cropsia la aparición de catarata (33).

5.1.2. Morfología Sistémica :

En orden a investigar los órganos donde la afectación general de las drogas y en particular de la toxicidad descrita para BLM es más im- portante, se eligieron varias localizaciones sistémicas.

En primer lugar en la piel, donde es mayor el acúmulo de BLM que en otros órganos de la economía sistémica (14 y 143) y donde dispo-

ñamos de una cinética celular muy dinámica y por lo tanto susceptible de ser dañada por un antibiótico antitumoral selectivo de la fase de crecimiento celular (8 y 73). En nuestros animales de experimentación, si bien sólo con microscopía óptica, no encontramos las lesiones descritas de hiperqueratosis o destrucción de algunas de las capas dérmicas con adelgazamiento e incluso ulceración de la epidermis en algunas zonas (24). La vascularización era, asimismo, normal. Por todo ello, podemos concluir que en los animales de experimentación utilizados la lesión dérmica se limitó a la observación clínica de alopecia sin encontrar más datos morfológicos que los correspondientes a esta entidad.

El estudio histológico de músculo de la pared abdominal dió resultados rigurosamente negativos. En dichos músculos la vascularización estaba totalmente conservada y la histología era normal. Las fibras eran normales cuantitativa y cualitativamente, dando un signo indirecto de la no afectación neurológica periférica descrita en otros agentes antimitóticos como los alcaloides de la vinca (129).

La eliminación de la BLM en un 30 a 40% (14 y 63), es a través de los riñones, por lo que se eligieron estos órganos para su estudio. Asimismo, si la lesión producida por la droga era, como pensábamos, a través de un mecanismo inmunológico por depósitos de inmunocomplejos, este órgano podría darnos importante información al respecto. Sin embargo, los resultados obtenidos fueron negativos al mostrar los ovillos glomerulares perfectamente conservados y sin depósitos a ningún nivel, aunque no se utilizó microscopía electrónica en este caso. Del mismo modo, no se encontraron las lesiones descritas en la utilización de las primeras Phleomicinas que son similares a las de Kanamicina (130 y 140), pero que con el grado de

purificación de la BLM fueron descartadas antes de su utilización - clínica. Los hallazgos morfológicos renales concuerdan con los encontrados en la bioquímica que serán comentados posteriormente.

La afectación hepática de las drogas en general es amplia, verosímilmente debido a su papel de "filtro" de la circulación entérica y a su capacidad de metabolización de productos procedentes del exterior (117). Ha sido descrita una alteración específica de BLM para el hígado con cambios histológicos, enzimáticos y ultraestructurales precisos (19 y 130) afectándose la célula hepática a nivel mitocondrial y produciendo alteraciones en el transporte activo con aparición de ictericia en algunos casos. En nuestros animales no se produjo lesión histológica alguna como veíamos en el capítulo de resultados, si bien es verdad que no se realizaron técnicas de microscopía electrónica. Sin embargo, tampoco se han visto alteraciones indirectas, en el sentido de dilatación de canalículos biliares que orientaran hacia una patología no visible ópticamente de los hepatocitos. Como en el caso de la lesión renal, los resultados concuerdan con la bioquímica encontrada en las ratas.

No se estudiaron muestras de intestino delgado, por lo que no se ha podido descartar o afirmar la lesión encontrada en ratones por Cohen (23).

5.2. HALLAZGOS BIOQUIMICOS

5.2.1. Humanos

Es necesario aclarar en un principio que en los casos humanos que hemos estudiado a lo largo de este tiempo y que se han incluido en la serie general, no se han querido valorar las alteraciones bioquímicas encontradas, ya que éstas podrían estar modificadas por la repercusión general de la enfermedad de base. Es decir, la enfermedad tumoral que tenían todos los enfermos era causa suficiente para justificar los cambios bioquímicos que encontramos en la analítica.

No obstante, y aunque se ha analizado detalladamente, la impresión clínica es la de no haber encontrado manifestaciones extrapulmonares de toxicidad. Aunque en la literatura se comunica la aparición de una lesión hepática reversible (13, 135, 136 y 144), de complejas características ultraestructurales e histoenzimológicas, (19) y que dan lugar a elevaciones transitorias y discretas de las transaminasas, fosfatasa alcalina y LDH (143), no hemos encontrado una correlación similar en nuestros pacientes. En cuanto a la nefropatía intersticial reversible descrita por el grupo de Worcester (116), no hay en nuestros casos datos para pensar en ella; si bien es verdad que aquella experiencia fué realizada en perros sometidos a tratamientos prolongados y con dosis muy elevadas de BLM.

5.2.2. Animales de experimentación

Realizando las comparaciones estadísticas descritas en el capítulo de material y métodos y de resultados, podemos alcanzar algunas conclusiones que vamos a comentar de forma separada :

- Colesterol : No hay en nuestros animales de experimentación -
datos que induzcan a pensar en que la droga inter-
fiera en su metabolismo.
- Urea : No existe insuficiencia renal producida por la -
Bleomicina. Dato también apoyado por los valores
de Creatinina aunque no hayan sido analizados -
(48).
- Glucemia : Se ha mantenido sensiblemente igual en todos los
grupos, por lo que podemos concluir la no interfe-
rencia en el metabolismo de los hidratos de carbo-
no de la BLM.

Respecto a la posible producción de hepatopatía ya citada (13, 19, -
135, 136, 143 y 144), no hemos encontrado datos que lo apoyen en -
el análisis de los valores de Fosfatasa alcalina, Transaminasa glu-
támico oxalacética y Ganma-globulina.

Al analizar los valores de las globulinas alfa 1 y alfa 2, hay que -
aclarar que los datos obtenidos han sido muy bajos y por lo tanto su
valoración estadística es dudosa. Por este motivo no subrayamos -
los hallazgos sobre estas dos fracciones que por otro lado no han -
dado diferencias significativas coherentes.

La fracción globulínica beta fué estudiada con detenimiento en el -
sentido de ver las posibles alteraciones del complemento, localiza-
do en esta banda del espectro. En ninguna de nuestras series de ani-
males de experimentación encontramos diferencias significativas -
(Figura 22). Al ser realizados los espectros en plasma total y no en
suero observamos que en algunos animales la banda correspondiente

al fibrinógeno aparecía a la altura de la beta-globulina, incluyéndolo para el análisis estadístico en la totalidad de la beta-globulina - (47).

Con respecto a los valores de ácido úrico, encontramos por primera vez diferencias estadísticamente significativas (Figura 23) con - "p" menor de 0'01 entre la serie de ratas no tratadas y las series - II, III, IV y V. Estos datos son los correspondientes a la ratas tratadas con la dosis más alta de BLM y que, además, recibían la droga cuando fueron sacrificadas. Se confirma de esta forma su actuación a nivel de la detención de algunas fases de la reproducción celular, como está bien establecido (8 y 73), interpretando estos hallazgos como inespecíficos atribuyéndolos a hiperproducción por - destrucción celular. Conviene destacar que ni la serie I, que recibió dosis bajas, ni la serie VI que estuvo sin tratar durante los dos últimos meses de la experiencia, mostraron a su muerte alteraciones significativas con respecto a las ratas normales de la serie N.

Los datos obtenidos del estudio de la Albúmina (Figura 24), únicamente se demostraron diferencias estadísticamente significativas entre la serie normal y el grupo tratado con BLM más Betametaxona. - Aunque ésta se caracteriza por su bajo efecto en cuanto a la retención hídrica (44), el hecho de que en esta serie disminuyen la albúmina y las Proteínas totales puede atribuirse al factor de dilución - introducido al añadir este fármaco en la experiencia de la serie III.

Calcio - Fósforo

En un primer análisis de datos (Figuras 22 y 23), observamos hipercalcemia en los grupos II, IV y V con respecto a la serie N o normal de una forma significativa desde el punto de vista estadístico. Es de

cir, se había elevado la calcemia en todas aquellas ratas que recibían BLM en el momento de su sacrificio, excepto en la que recibía al mismo tiempo esteroides. En un principio, achacamos la no elevación del Calcio en las ratas con terapéutica esteroidea (serie III) a la actuación de ésta en orden a producir hipocalcemia mediante la inhibición del paso a formas activas de la Vitamina D (11). Sin embargo, dadas las diferencias obtenidas en cuanto a la albúmina utilizamos la fórmula descrita en el capítulo de Métodos con objeto de obtener mediante cálculo el calcio iónico (60). Al someter estos datos nuevos a estudio estadístico, se demostraron valores elevados de calcio en todas las series que recibían BLM en el momento de su sacrificio incluida aquella que recibió también Betametasona con resultados de "2p" inferiores a 0'01 en todos los casos (Figura 25). Por todo ello, llegamos a las conclusiones siguientes :

- Elevación del Calcio en las ratas tratadas
- Dosis dependiente
- Presencia de dosis dependiente en el momento del sacrificio

En el análisis secuencial de las posibilidades de producción de hipercalcemia por Bleomicina nos faltan datos morfológicos de paratiroides, hueso y tiroides que no elegimos en el protocolo experimental y que nos obligan a basar la discusión en otros aspectos. Faltan también datos bioquímicos completos ya que solo disponemos del fósforo y la fosfatasa alcalina normales además del calcio elevado. Faltan también apoyos bibliográficos ya que las revisiones más extensas no hablan de la elevación del Calcio en los tratamientos con BLM e incluso alguna de ellas (13 y 144), aseguran disminuciones que no valoramos excesivamente por la posible interferencia, ya comentada, de la enfermedad tumoral de base.

En la búsqueda bibliográfica de intervención en el metabolismo del calcio de otros antibióticos de mecanismo de acción similar, es decir, con intervención en la síntesis proteica a nivel celular anti-ácidos nucleicos analizamos el caso de la Mitramicina, cuya acción hipocalcemiante es debida a la detención de la actividad osteoblástica inhibiendo la parato-hormona a nivel del hueso (99). Esto ha sido demostrado en cultivos celulares de hueso "in vitro" observando una disminución de la actividad de la PTH al añadir Mitramicina al cultivo (86). Como vemos en el Capítulo III de esta tesis tampoco hay datos en el estudio farmacológico de la BLM que incidan sobre algún aspecto del metabolismo calcio-fósforo (78).

Si intentamos imbricar la elevación del calcio con otros aspectos de la toxicidad de la BLM, podemos ponerlo en relación con la neumopatía producida mediante la actuación de la hipoxia o de otras alteraciones respiratorias que influyeran en dicho metabolismo. Sin embargo, hay dos puntos que contradicen esta afirmación; el primero bibliográfico, ya que sabemos que la hipercalcemia puede producir neumopatía a través de depósitos difusos en el parénquima pulmonar por ser éste un órgano que, como la mucosa gástrica y el túbulo renal, está sometido a continuos cambios de Ph, pero no se da la situación inversa de hipercalcemia por neumopatía (80). El segundo es que la serie VI que, como veremos, está afectada de neumopatía en igual o mayor grado que las otras no tiene elevación de la calcemia. La sarcoidosis es, quizás, la única afectación neumopática en la que encontramos hipercalcemia pero sería un concepto muy pobre entender la Sarcoidosis sólo como neumopatía y no como enfermedad auténticamente sistémica, en la que el mecanismo de producción de hipercalcemia se encuentra a nivel de la absorción intestinal de calcio mediante una acción, quizás, de aumento de sensibilidad a Vitamina D, no del todo conocida (60).

-HOMEOSTASIS DEL CALCIO-

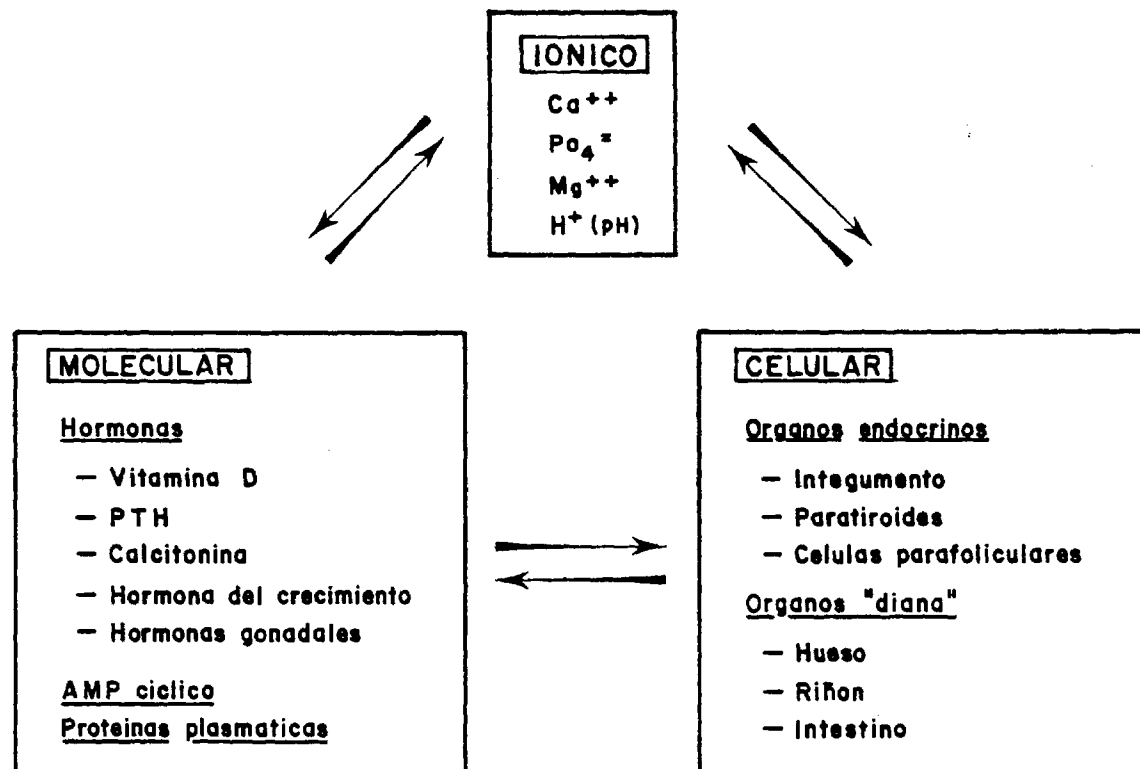


Figura 51

Basándonos en el esquema de la Figura 51 que se refiere a la homeostasis del calcio y sus interinfluencias y en el cuadro de la Figura 52 en el que se exponen las alteraciones encontradas en el calcio, fósforo, fosfatasa alcalina y proteínas totales de nuestros animales de experimentación comparándolos con algunas situaciones patológicas conocidas, vamos a orientar la discusión del mecanismo por el que la BLM produce elevación del calcio.

1º) Aumento de la absorción intestinal del Calcio :

Dicha absorción se realiza mediante dos mecanismos. El primero, por difusión simple, no influenciado por fármacos y el segundo, de transporte activo a través de una proteína transportadora que sí puede interferirse por algunos fármacos que bloquearon la síntesis proteica a nivel celular. Sin embargo, éste no puede ser el caso de la BLM, ya que el resultado final sería disminución de la calcemia y no elevación como sucede en nuestros animales. Otra forma de influir en la absorción intestinal podría ser a través del complejo sistema que incluye a la ATPasa intestinal, probablemente bajo control de los niveles del propio calcio y de la presencia de formas activas de vitamina D, - este es verosíblemente el lugar de actuación de los esteroides (11), pero no puede ser el caso de la BLM ya que conduciría - también a hipocalcemia y no a elevaciones del calcio, a pesar - de que se han comunicado lesiones en la pared del intestino delgado del ratón achacables a BLM (23).

2º) Hiperparatiroidismo :

Bien a través de una influencia directa sobre las glándulas paratiroides produciendo aumento de PTH, o bien mediante la aparición de alguna sustancia "PTH like". En el cuadro de la Figu

ALTERACIONES DEL CALCIO, FOSFORO Y FOSFATASA ALCALINA

| | CALCIO | FOSFORO | FOSFATASA ALCALINA | PROTEINAS TOTALES |
|-------------------------|--------|---------|-----------------------|----------------------|
| Hiperparatiroidismo | ↑ | ↓ | ↑ | N |
| Vitamina - D | ↑ | ↑ N ↓ | ↑ N | N |
| Sarcoidosis | ↑ | N ↓ | N | ↑ |
| Hipertiroidismo | ↑ N | N ↓ | ↑ N | N |
| S. de Leche y Alcalinos | ↑ | ↑ N | N | N |
| Osteoporosis | N | N | N | N |
| Osteomalacia | ↓ | ↓ | ↑ | N |
| Bleomicina | ↑ | N | N | N |

Figura 52

ra 52, vemos que los valores de fósforo y fosfatasa alcalina en los animales sometidos a experimentación son normales, por lo que no pensamos sea éste el mecanismo de elevación del calcio. Bien es verdad que el argumento definitivo lo daría la morfología de las paratiroides que no tenemos.

3º) Otras situaciones :

Respecto a la Sarcoidosis ya se han comentado los aspectos de su mecanismo de producción de hipercalcemia y además la morfología no ha mostrado en pulmón, en hígado, ni riñón granulomas no caseificantes donde apoyar el diagnóstico. El hipertiroidismo podría dar lugar a situaciones de hipercalcemia pudiendo ser similares, aunque no habitualmente, los valores de fósforo y fosfatasa alcalina en la hiperfunción tiroidea; pero faltan otros datos clínicos y bioquímicos que nos inclinen a pensar en ello. (Colesterol normal, etc.). Los trastornos de alimentación como el Síndrome de leche y alcalinos pueden conducir a hipercalcemia, pero la bioquímica completa no concuerda y como vimos en el protocolo experimental la dieta ha sido equilibrada e igual para todos los grupos.

4º) Afectaciones óseas :

Tanto la osteoporosis como la osteomalacia conducen a situaciones bioquímicas en nada superponibles a los animales que recibieron BLM. No obstante, el dato definitivo morfológico nos falta.

5º) Mecanismo a través de la vitamina D :

Los animales de experimentación eran mantenidos en cajas metabólicas durante el tiempo que duró la experiencia, y aunque -

mantenían el ritmo día-noche, no recibían luz directa del sol - en ningún momento. Como sabemos que estaban en periodo de - crecimiento, podemos intuir que existiría un déficit de Vitami- na D aunque fuera a niveles bajos. Es posible que la actuación de la BLM a nivel celular se realice a través de su poder reduc- tor en la piel, donde conocemos su acumulación en concentracio- nes muy superiores a las del resto del organismo. Así, influi- ría en una mayor producción de 25.OH. colecalciferol, y otras formas activas de vitamina D y secundariamente, a la actuación de éstas, en el mantenimiento de una calcemia adecuada. En el cuadro referido (Figura 52), podemos observar como los valo- res de fósforo, fosfatasa alcalina y proteínas totales coinciden con los de los animales que recibieron BLM. Hay que añadir - aquí que, por supuesto, tanto los resultados bioquímicos como morfológicos demuestran la no existencia de alteración renal, - factor que sería de suma importancia en la interpretación de - los datos si estuviera presente, aunque fuera de poca cuantía.

Esto hace que se de la vuelta a la explicación de la calcemia eleva- da en los animales que recibieron BLM con respecto a los no trata- dos. Es decir, que lo que anteriormente hemos encontrado es una - muy ligera hipocalcemia en las series que no recibían BLM o lo hi- cieron a dosis bajas debida probablemente a su no exposición al Sol. Y aquellas que mantienen niveles de calcio algo superiores han apro- vechado el poder reductor de la BLM para suplir el déficit de radia- ción ultravioleta que tuvieron durante su crecimiento (11, 18, 47, - 98. y 101).

5.3. HALLAZGOS EN PATOLOGÍA PULMONAR

5.3.1. Hallazgos funcionales

La toxicidad pulmonar de la BLM ha sido descrita en múltiples ocasiones en la literatura desde su descubrimiento y aplicación clínica en terapéutica tumoral (13, 20, 36, 40, 43, 48, 56, 94, 96, 108, 141 y 144). Los porcentajes, en cuanto a pacientes afectados, se sitúan entre el 5 y el 10% de los tratados (16), y de éstos se cifra en el 1% los que fallecen por causa de la afectación pulmonar. Esta alteración puede ser aguda (98) o por fibrosis establecida, es decir, crónica. Sin embargo, conviene resaltar que estos estudios basan la calificación de afectación pulmonar en la recogida de datos clínicos o funcionales que quizás no ofrecen auténtica garantía en el despistaje de posibles lesiones que intervengan en poco grado en los parámetros estudiados (13 y 144).

Si se emplean en la exploración pulmonar métodos más finos, aplicando técnicas que registran pequeños cambios en la difusión alveolar (49 y 93), los resultados cambian. Este es el hecho de la serie comunicada por Pascual y colaboradores, quienes utilizando el método de la difusión para el monóxido de carbono $D_L CO$, el porcentaje de afectación aumenta hasta el 66% (95), si bien sólo analizan seis casos.

Nuestra serie confirma estos resultados al encontrar un 85% de casos en los que el $D_L CO$ ha disminuido, después de la terapéutica con BLM, más de 1'5 ml/min/mm de Hg. respecto al previo. Se ha intentado establecer una relación entre el descenso del $D_L CO$ y otros factores que dentro de la fisiología dinámica pulmonar podrían tam-

bien afectarse por la aparición de Fibrosis como es la Capacidad Vital (CV). La CV disminuye en el 70% de los casos estudiados, - así como el volumen alveolar efectivo fué inferior después de la terapéutica en un elevado porcentaje de los pacientes en los que se - calculó.

Del análisis correlativo de los hallazgos en la Difusión y en los Volúmenes nos aproximamos a la conclusión de que la alteración no es sólo debida a disminución del parénquima funcionante, es decir, ventilado y perfundido; sino que da lugar a la aparición de zonas ventiladas pero en las que la difusión alveolar no es correcta. Si introducimos los resultados que tenemos de Volumen alveolar efectivo en relación con la CV, vemos que el descenso de áquel no guarda correspondencia con ésta, por lo que hemos de suponer un defecto primario de perfusión pulmonar a algún nivel de tal modo que el resultado final va a ser un descenso evidente de D_LCO como expresión - más definitiva y rigurosa de la lesión pulmonar inducida por la BLM. En definitiva, aparece la manifestación más común en aquellas lesiones pulmonares que afectan al intersticio primordialmente (32, 58, - 85, 96, 107 y 122).

No creemos que una historia previa respiratoria pueda aumentar o acelerar el daño pulmonar inducido por BLM, como tampoco la presencia de una historia de fumador, (13 y 144), ya que en nuestros casos no hay correlación. Pero hay que valorar el hecho de que muchos de los pacientes que reciben BLM tienen por sí mismos factores previos que comprometen su hematosis; como la posible bronconeumopatía previa, anemia tumoral, afectación pulmonar directa por el tumor o las metástasis, personas de edad avanzada, operados de pulmón, y, en general, todos en los que el deterioro sistémico debi

do a su enfermedad tumoral sea importante. En ellos, pequeños — cambios en la difusión pulmonar, repercuten seriamente en intercambio gaseoso a nivel del alveolo y a su vez puede llevar a grandes — desastres en cuanto a la oxigenación tisular. Insistimos, por tanto, en la vigilancia estricta de estos enfermos en los que se han de detectar precozmente pequeños cambios en el D_LCO que, por su vulnerabilidad general a la agresión pulmonar en particular, se hacen peligrosos.

Comentario aparte merecen los enfermos que han sido previamente radiados como sucede en gran cantidad de linfomas. Mediante un mecanismo no claramente establecido, pero que verosimilmente se encuentra en la producción de fibrosis por radioterapia y, por tanto, en la vascularización deficiente cuantitativamente e inmadura cualitativamente, los tejidos previamente radiados tienen una especial — predisposición a ser alterados por la BLM. Los efectos fibrosantes de la droga se ven potenciados, sobre todo, a nivel pulmonar (34). Por lo que el cuidado será muy especial en estos pacientes, reduciendo las dosis al mínimo terapéutico o prescindiendo de esta droga.

Respecto a la dosis-dependencia de la lesión pulmonar inducida por BLM, no hemos encontrado datos que justifiquen esta afirmación en su totalidad. En las revisiones más amplias de la literatura (13, 16, y 144), se comunica que la toxicidad es dosis-dependiente, sin embargo, el coeficiente de correlación obtenido de nuestros casos no tiene significación estadística, adelantando ya aquí una de las conclusiones finales en orden a asegurar que la lesión pulmonar inducida por BLM tiene un mecanismo inmunológico de producción en muchos casos, y, por lo tanto, es más dependiente de la especial pre-

disposición de los individuos a desencadenarles que a la dosis recibida. Recientemente se han comunicado casos filiados como neumonitis por hipersensibilidad con dosis muy inferiores a las habituales, pero con deterioros funcionales muy importantes (48 y 94).

Uno de nuestros casos, (no incluido en la serie presentada), recibió un total de algo más de 600 mg. de BLM a lo largo de un año, - como terapéutica de un carcinoma embrionario. Durante este tiempo tuvo un descenso de 2'8 ml/min/mm de Hg. del D_LCO que calificamos como ligero, presentando un desenlace agudo después de una dosis de la droga filiado necrópticamente como pulmón agudo de - BLM con características morfológicas de neumonitis por hipersensibilidad. Este caso apoyaría la idea comentada de alteración no dosis-dependiente, sino secundaria a respuestas inmunológicas no - bien filiadas aún, o a un mecanismo mixto : directo de la droga y a través de hipersensibilidad.

5. 3. 2. Datos Radiológicos

Antes de empezar a comentar los hallazgos encontrados y su discusión, hemos de hacer una puntualización previa que se hace necesaria, en tanto en cuanto, los pacientes que reciben Bleomicina padecen una enfermedad de base que puede alterar las conclusiones. Los factores que pueden influir en la evolución radiológica son múltiples, no sólo la afectación directa de la Bleomicina sobre el pulmón, sino que la progresión de la propia enfermedad de base por un lado, y - por otro la actuación de la terapéutica sobre el tumor, pueden condicionar cambios que en la radiología parezcan como evidentes y - erróneamente achacables a la toxicidad pulmonar. Este es el caso - de la aparición en pacientes con linfomas Hodgkin o no Hodgkin, de

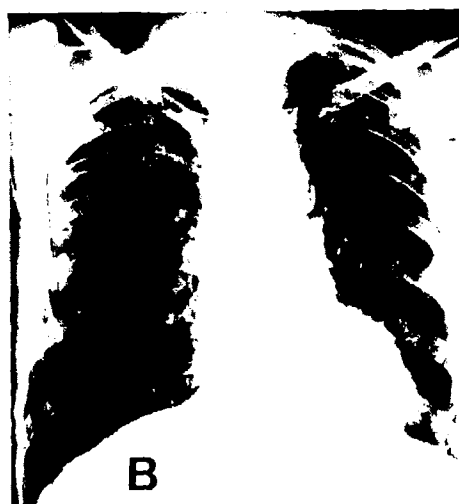
linfangitis carcinomatosas en el pulmón cuya traducción radiológica puede ser muy similar a la radiología que va a producir la manifestación pulmonar aguda secundaria a la terapéutica con BLM. También es fuente de error la fibrosis secundaria a la necrosis por la terapéutica que se puede producir en los tumores de estos pacientes y que de ningún modo tiene relación con la toxicidad de la Bleomicina.

Los cambios radiológicos ampliamente descritos (50, 69, 96 y 112), consisten, como han consistido en nuestros casos, en un infiltrado difuso bilateral fundamentalmente localizado en bases con patrón intersticial en un primer estadio y que, posteriormente, pueden incluso llegar a mostrar patrón alveolar claro. Cuando después de retirar la droga o en pleno tratamiento, ha pasado tiempo suficiente, la afectación es indistinguible de cualquier fibrosis difusa de otra etiología. En algunas ocasiones, la imagen radiológica muestra imágenes de infiltrados confluentes también fundamentalmente localizados en bases, pero que siguen manteniendo el patrón intersticial y alveolar (48 y 69). En la Figura 53 vemos la evolución del caso 1 - de nuestra serie sin cambios y en la 54 las del caso número 20 con cambios radiológicos muy evidentes.

Llama poderosamente la atención que en nuestra serie de 20 casos, no aparece como correlativa la lesión pulmonar radiológicamente visible con las afectaciones funcionales que hemos comentado en el apartado de resultados. Así en los casos 5, 7, 12, 14, 15, 17 y 19 aparecen descensos de la difusión de importancia evidente, mientras que la radiología no se altera de la forma esperada. Esto viene a indicarnos que el seguimiento de los pacientes en los que se sospecha una afección tóxica pulmonar de la Bleomicina no debe limitarse



Fig. 53



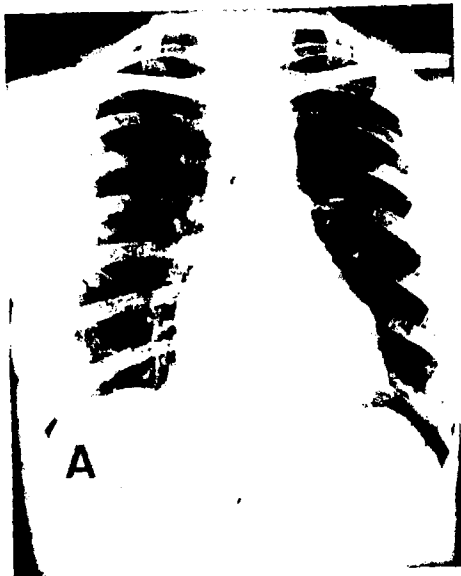
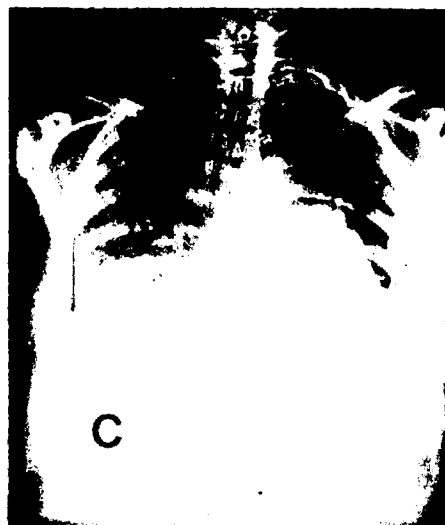
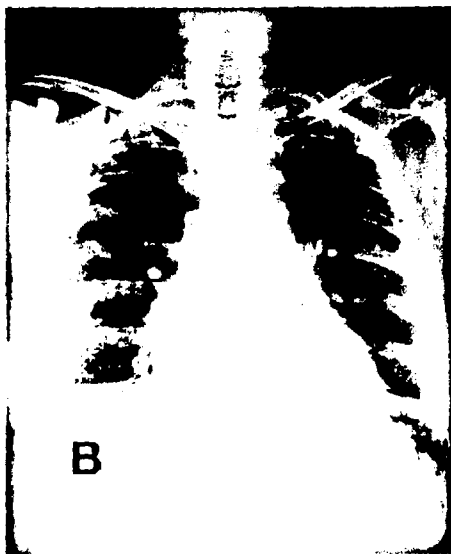


Fig. 54



al estudio de la radiología de torax seriada puesto que, al igual - que sucede en otras muchas situaciones patológicas como edema - pulmonar bien sea de origen cardiogénico o no, la radiología sigue en horas o incluso en días a la aparición de daño funcional (95), o incluso no se registra.

Al comentar los datos radiológicos que pueden aparecer en el curso del tratamiento con la Bleomicina, siempre limitados a la radiología de torax, merece la pena valorar el hecho de lesiones fibróticas groseras en las placas realizadas de localización peritumoral. Generalmente, estos hechos no pueden ser achacables en su totalidad a la acción de la Bleomicina sobre el parénquima pulmonar, sino que en ocasiones corresponden a la necrosis y posterior fibrosis de las zonas tumorales que han respondido de una manera correcta al tratamiento antitumoral que se está recibiendo (5). Otro asunto - es el hecho de que el tejido peritumoral alcanza una concentración mayor de la droga sobre todo si esta localización es a nivel pulmonar (66, 76, 87 y 104) y, por lo tanto, la posibilidad de que sea esa zona la que mayor relieve presente en sus alteraciones es plenamente achacable a la actuación directa de la Bleomicina. Tan es así, - que hay comunicados numerosos trabajos en los que la utilización - de la Bleomicina marcada en combinación con la Gammagrafía pulmonar da buenos resultados en la localización de lesiones tumorales - sobre todo de estirpe epidermoide, debida fundamentalmente a la mayor afinidad del preparado por los parénquimas en evolución constante de estirpe epitelial y preferentemente de localización pulmonar.

En el seguimiento de los pacientes que reciben Bleomicina es, por supuesto, fundamental la realización de radiografías seriadas de - torax, pero como comentábamos antes (27 y 95), pensamos que no -

es el método ideal para el seguimiento de estos pacientes, y creemos que los métodos funcionales son de una eficacia muy superior a lo que nos aporta la radiología en ellos. Recientemente se han utilizado nuevas técnicas radiológicas combinadas con objeto de que el despintaje de la lesión tóxica producida por Bleomicina sea más eficaz, nos referimos a la utilización simultánea de la radiología y de la gammagrafía pulmonar con métodos específicos (112). Aunque mediante estos métodos la eficacia lograda es superior a la de la radiología sola o a la de la gammagrafía sola no alcanzan las cotas de seadas en la localización de las lesiones tóxicas pulmonares que obtenemos con la medición directa de la difusión o con cualquiera de las técnicas que en el estudio de la función respiratoria se emplean habitualmente en clínica.

Inciendiendo en otro de los datos radiológicos que mayor trascendencia en el estudio del pulmón de Bleomicina puede sernos de utilidad el hecho de que con determinadas terapéuticas es posible que algunos de los tipos de lesión radiológica encontrada sea reversible en un período no excesivo de tiempo. Como comentaremos posteriormente, la Bleomicina no produce una lesión única en cuanto a su patogenia en el pulmón, sino que puede producir lesiones directas o lesiones de hipersensibilidad. En el caso de las neumonitis por hipersensibilidad descritas recientemente en la literatura (48), puede sernos de cierta utilidad la utilización de la radiografía después del tratamiento adecuado con esteroides. La resolución de las imágenes que hemos descrito líneas arriba hasta la total desaparición de las mismas o la pequeña lesión residual fibrótica, puede dar lugar al diagnóstico y al seguimiento eficaz de los pacientes tratados.

Merece la pena comentar la aparición de otras lesiones no achacables a la fibrosis pulmonar que pueden tener una traducción radio-

lógica. Esto es la descripción de amiloidosis sistémica en el 40 % - de los casos tratados en ratones (57) de localización fundamentalmente en riñón e intestino delgado, pero de una manera primordial pulmonar de forma sub-pleural. Aunque este proceso no ha sido descrito con frecuencia en la literatura y en los casos que nos ocupan no hemos encontrado amiloidosis, a pesar de realizar tinciones apropiadas, no se debe dejar de citar la aparición de lesiones sub-pleurales cuya traducción radiológica sea aparente que puedan indicar una afectación por Bleomicina. No obstante, la afectación amiloidótica debe ser excesivamente tardía como para que el hallazgo radiológico pueda tener valor en clínica.

Como veremos en nuestros casos experimentales, pensamos que el origen de la alteración pulmonar bien de forma directa o bien por idiosincrasia especial en la respuesta del individuo, es fundamentalmente en los pequeños vasos pulmonares, es por esto por lo que intuimos que la aparición de hipertensión pulmonar con las consiguientes manifestaciones radiológicas que esto llevaría consigo, no sólo en los vasos pulmonares sino incluso en la silueta cardíaca puede ser un signo radiológico de importancia en el estudio de los enfermos tratados con Bleomicina. Como resumen, exponemos en el esquema de la Figura 55 las alteraciones radiológicas que encontramos y los métodos de estudio de los pacientes tratados con Bleomicina que llevarán a aclarar la lesión radiológica achacable a esta toxicidad de una forma más concreta y eficaz.

5.3.3. Morfológicos

Llama la atención en el análisis de la literatura aparecida en los últimos años la profusión con que los aspectos de toxicidad pulmonar -

RADIOLOGIA

HALLAZGOS

- ① Localización fundamentalmente basal
- ② Infiltrado Intersticial
 - ↓
 - Alveolar
- ③ Patrón reticular o reticulo — nodular
FIBROSIS
- ④ Datos ocasionales:
 - ④ a) Fibrosis | peritumoral (necrosis)
 | subpleural (amiloidosis)
 - ④ b) Hipertensión pulmonar | Parenquima
 | Silueta cardiaca

SEGUIMIENTO

- ① Radiografías seriadas de torax
 - A. P.
 - Lateral
- ② Gammagrafías con BLM marcada
(localización tumoral)
- ③ Combinación de { Centelleo
 Radiografia

VIGILANCIA ESPECIAL

- ① Crecimiento tumoral
- ② Atelectasias
- ③ Linfangitis tumorales

Figura 55

por drogas ha sido citado. El número de drogas mencionadas se ha incrementado considerablemente y el interés del conocimiento de sus complicaciones radica, a nuestro juicio, por un lado en su mayor uso y, por otro, en que cada día mejoran los sistemas de diagnósticos, exploración e investigación de los aspectos patológicos del pulmón. En la tabla de la Figura 56 observamos un cuadro modificado de Lippmann (67), en el que vemos las drogas que han sido comunicadas como productoras de reacciones pulmonares en el sentido amplio de la palabra.

Verosimilmente, al aumento masivo de estas complicaciones no contribuyen sólo los dos aspectos antes referidos y el advenimiento de nuevas drogas terapéuticas, sino que, además, el pulmón por sí mismo ha de estar implicado en la aparición de tan numerosas reacciones adversas o secundarias. Desde tiempos históricos, se consideraba al hígado y al pulmón como órganos filtro para la circulación sistémica y la circulación menor respectivamente. Recientemente, este aspecto ha sido de nuevo subrayado al considerar al pulmón como filtro atrapador de sustancias que podrían dañar a otros órganos de la circulación, actuando en la circulación menor tal como lo hace el hígado en la circulación entérica. De esta forma, se realizarían en el pulmón no sólo atrapamientos físicos en su red capilar como en el caso de la hidatidosis, sino que este órgano estaría adaptado para realizar las transformaciones metabólicas que fueran necesarias actuando con ese fin como un "buffer" de la circulación menor (32).

El enfisema y la fibrosis intersticial difusa han sido descritos como constituyentes de los estadios crónicos finales de daño y reparación de un órgano de tres fases (gas, líquido, sólido). En el primer caso bien por defecto del desarrollo de la subdivisión bronquial, bien por

REACCIONES PULMONARES A DROGAS

Agentes quimioterapicos e inmunosupresores

Busulfan
Metrotresato
Corticosteroides
Ciclofosfamida

Antibioticos

Bleomicina
Polimixina, colistina
Aminoglucoxidos
Sulfamidas
Nitrofurantoina

Hipertensión pulmonar

Anticonceptivos
Polvos

Metales

Oro
Mercurio
Cadmio

Diversos

Hexametonium
Paraquat
Polvo hipofisario
Dilantina

Lupus inducido

alteraciones en la lámina basal o por alteraciones directas en los vasos sanguíneos y linfáticos, se podría producir una destrucción alveolar que conduciría al enfisema. Distinto es el caso de sustancias que actúan directamente sobre las células alveolares como puede ser la Bleomicina que produce una proliferación selectiva de células laminares (tipo 2). En este sentido, el efecto sería comparable a la infección por virus como en el caso de la llamada Maedi o Jaagseikte, cuya similitud con la neumonía descamativa o la alveolitis alérgica resultan evidentes (58). De esta manera, las alteraciones producidas en el sentido de descamación y alveolitis podría llevar, en un estadio evolutivo posterior, a la producción de fibrosis intersticiales que constituirían el otro estadio crónico final de daño y reparación del pulmón (96). La intervención de agentes químicos y de partículas en la producción de fibrosis pulmonar por este mecanismo, es decir, a través de una neumonía intersticial, o por otros ha sido descrita en múltiples ocasiones (123).

Se han implicado en la producción de toxicidad pulmonar por mecanismos que sugieren hipersensibilidad (31) al Metrotexate (84), la ciclofosfamida (97 y 138) y el Busulfan (46, 68 y 121). En el caso de la Nitrofurantoína el mecanismo productor de la reacción pulmonar que va a condicionar a la larga un estado de fibrosis, ha sido claramente demostrado a través de una neumonitis intersticial secundaria a reacción de hipersensibilidad tipo 3, con depósitos de inmunoglobulina en la membrana basal y en otras zonas de la periferia pulmonar (7, 14, 70 y 90). De esta misma forma existen comunicaciones (137) que indican la actuación del mecanismo descrito en la producción de depósitos granulares, en este caso no en el pulmón, sino en la piel, producidos por hipersensibilidad con Alopurinol.

Volviendo al aspecto anteriormente citado de la producción de fibrosis pulmonar como resultado final o estado final de la lesión, queremos insistir en que los estados fibróticos pulmonares van a ser el resultado de múltiples agresiones al pulmón cuya monótona manera de responder va a ser la formación o la aparición de una neumonía intersticial descamativa que en su aspecto evolutivo va a registrar observaciones histológicas con un patrón indistinguible de una fibrosis producida por otro mecanismo (96).

Si analizamos nuestros hallazgos en la patología pulmonar y los complementamos con los datos obtenidos en la literatura, podremos seguir un camino de eslabones bien configurados y unidos unos a otros de forma evidente y que dan lugar por primera vez a aclarar la dinámica de producción de las fibrosis pulmonares iatrogénicas por BLM y por extensión (similitud patogénica y morfológica) por otras drogas,

Resulta evidente que la lesión inicial de la lesión producida por BLM en nuestros animales se sitúa a nivel del capilar y de las arteriolas pulmonares, produciendo un fenómeno de angitis con acúmulo de polimorfos eosinófilos y de mastocitos en la atmósfera perivascular; de igual modo que los infiltrados descritos en otras neumonitis por hipersensibilidad tanto producidas por inhalación como por aplicación de exoalergenos parenterales (142). Hay en la literatura otros casos de neumonitis intersticial por Bleomicina en los que encuentran indemne la pared vascular (48) pero con gran probabilidad si las biopsias hubieran sido realizadas de forma precoz o se hubiera tenido acceso a todo el parénquima pulmonar, se hubieran obtenido las imágenes perivasculares de las que tratamos en este momento.

El siguiente estadio de la lesión global de la BLM se sitúa a nivel alveolar, con descamación celular e incluso ocupación completa de los alveolos fundamentalmente a expensas de los neumocitos tipo II. Para que esta situación llegue a producirse demostramos con nuestra serie que la insistencia en la aplicación de BLM ha de ser considerable, ya que no aparece en los primeros días, sino que lo observamos en las series que llevan largo tiempo sometidas a la terapéutica. Por otro lado, las descripciones de lesiones pulmonares inducidas por Bleomicina casi siempre se sitúan a partir de ciertas dosis y son pocos los casos en los que aparecen lesiones fibróticas con pocos miligramos de la droga (1, 37 y 61).

Posteriormente, siguen localizándose los acontecimientos a nivel alveolar, pero ya hay una participación más activa desestructurándose la arquitectura habitual de forma importante y conduciendo a engrosamientos de las septas alveolares con marcado edema. Hasta aquí nos encontramos con la posibilidad de reversibilidad de la lesión pulmonar, es decir, si en este momento aplicamos una terapéutica que logre detener el mecanismo por el que se está produciendo la lesión, ésta retornará y el parénquima dañado recuperará su estructura normal con mínimas secuelas que no comprometeran su función de intercambio gaseoso ni aún en poca cuantía.

Las alteraciones producidas hasta ahora pueden ser, y de hecho son, coincidentes en el tiempo; y en su patogenia se imbrican mecanismos de respuesta pulmonar a la agresión externa que, como veíamos anteriormente pueden ser muy monótonos. La traducción bioquímica de las fases de descamación alveolar inducida en todas por BLM y por otras drogas es similar a la encontrada en todos los tipos de neumonía intersticial descamativa idiopática (42), con un aumento de

los fosfolípidos alveolares, representados por el surfactante (3 y 4) que va a dar lugar al agotamiento de los neumocitos responsables - de su producción y a la desaparición del mismo con la pérdida consiguiente del equilibrio arquitectónico pulmonar. La representación morfológica óptica y ultraestructural de estos acontecimientos viene dada, como vemos en nuestros casos, por la descamación de células alveolares, neumocitos tipo II fundamentalmente y por la necrosis focal de neumocitos tipo I descrita en la literatura (2 y 10).

Si continua la agresión que han producido estas lesiones, continuarán los cambios en la pared septal, ya alterada por el edema que - la ha desestructurado y aparecerá una proliferación importante de fibroblastos (28) condicionando el paso de la barrera antes citada - de la reversibilidad de las lesiones (2 y 142), ya que se pone en marcha una evolutividad crónica hacia la fibrosis y, por lo tanto, - pérdida de función de las paredes alveolares. En este punto pueden existir factores que alteran el normal comportamiento del metabolismo del colágeno pulmonar como de hecho ocurre en la fibrosis intersticial difusa producida por la radiación (100). Factores que aceleran la evolución hacia una alveolitis fibrosante, estado final que persiguen todas las neumopatías productoras de fibrosis. Numerosas comunicaciones en la literatura (41, 74 y 142), y nuestros casos humanos confirman que, la alteración final que produce la BLM es - la fibrosis, aunque en algunos casos se necesitan dosis muy altas - para llegar a este estado.

Una vez que hemos seguido el camino que la fibrosis iatrogénica por BLM sigue desde el punto de vista morfológico, vamos a analizar - los posibles mecanismos patogénicos que condicionan a este camino y no a otro. En primer lugar, hay autores que indican la lesión tó-



xica directa de la BLM sobre el pulmón donde vemos que alcanza mayores niveles y explican por ese mecanismo la puesta en marcha de los acontecimientos descritos (9). Esta hipótesis estaría apoyada en la inespecificidad de los infiltrados y en la posibilidad de producir fibrosis en todos los animales de experimentación utilizados, pero difícilmente puede explicar los casos agudos y tampoco puede relacionar la lesión pulmonar con otras, ya comentadas, de evidente contexto inmunológico (56).

La otra hipótesis para llegar a la alveolitis fibrosante como estadio final de daño y reparación del pulmón, sería a través de un mecanismo de hipersensibilidad no anafiláctico dentro de la inmunidad celular, encuadrando las lesiones encontradas morfológicamente dentro de la alveolitis fibrosante no extrínseca inducida por drogas. La morfología de las alteraciones pulmonares inducidas por BLM (2), es en todo superponible a la descripción de Scadding de alveolitis fibrosante difusa (113 y 115), y perfectamente encuadrable dentro de las reacciones de hipersensibilidad pulmonar de la alveolitis fibrosante criptogénica o no extrínseca en la que no se encuentran granulomas y cuyo mecanismo patogénico íntimo no está bien delimitado, hablándose de la posibilidad de alteración de linfocitos T, o incluso de la aparición de anticuerpos organoespecíficos (25).

A favor de esta última vía patogénica, existen en la literatura algunas comunicaciones (48), y en nuestro caso encontramos múltiples razones valorables para inclinarnos en este sentido. Estos argumentos son los siguientes :

1º) Infiltrados Inflamatorios :

En ellos la característica monótona de la celularidad hallada se

compone, fundamentalmente, de mastocitos y polinucleares eosinófilos, sugiriendo la consideración de una respuesta de tras fondo fundamentalmente alérgico o de hipersensibilidad.

2º) Ausencia de granulomas :

Que indicarían más una respuesta directa a la droga y su disolvente con fagocitosis y aislamiento.

3º) Respuesta a los esteroides :

En la literatura se han comunicado casos de neumonitis por hipersensibilidad demostrada histológicamente que han respondido a esteroides (48). En nuestros casos, la serie que recibe Betametaxona a dosis terapéuticas minimiza las lesiones de vasculitis encontradas y no muestra el paso a estadios posteriores en la dinámica de la lesión. Hay comunicados también resultados satisfactorios, aunque no tan evidentes, utilizando otros preparados asociados con actividad antiinflamatoria e inmovilizadora de polinucleares (36, 72 y 118).

4º) Asociación con otros signos de hipersensibilidad :

Ya comentados ampliamente en capítulos anteriores y que junto a la lesión pulmonar dan un marco general de inmunidad alterada al interferirse el normal funcionamiento linfocitario, fundamentalmente de las células T a través de la actuación de la BLM sobre el DNA celular modificándolo en su estructura de alguna manera no del todo conocida. Mecanismos de actuación al mismo nivel están descritos para el dimetil mileran (15 y 35) que, por otra parte, ha mostrado respuestas cruzadas con la BLM.

5º) Aparición eventual de cuadros fulminantes :

No sólo pulmonares, sino generales que simulan la anafilaxia.

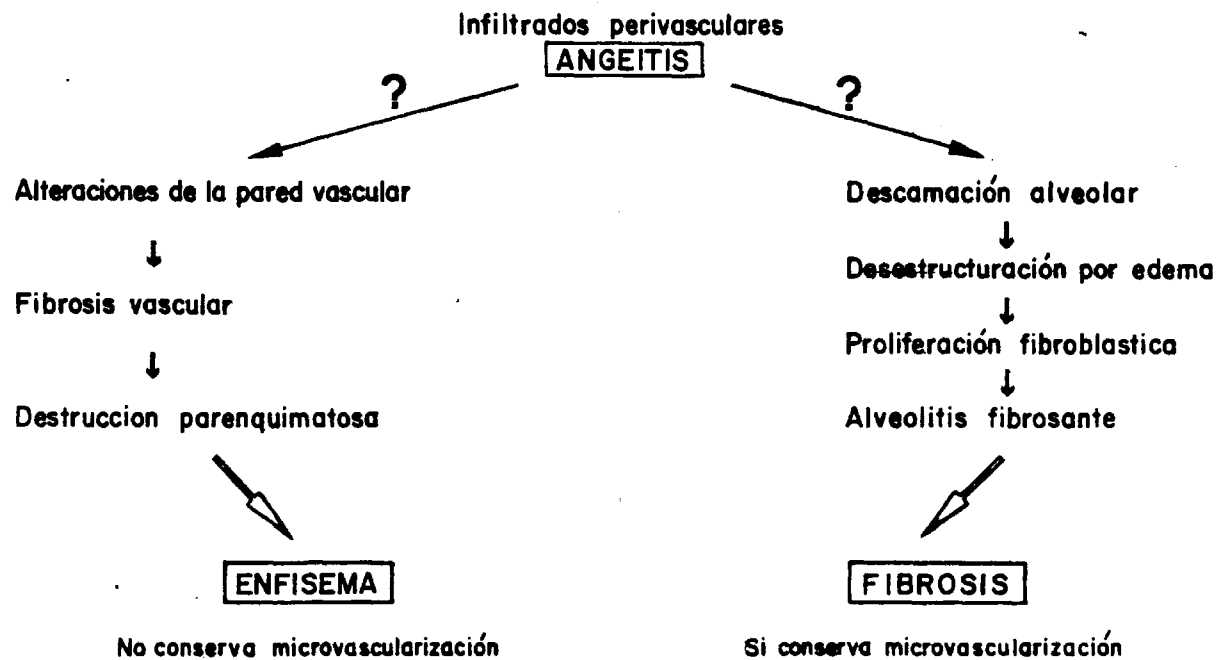
Así como reacciones cruzadas con otras drogas de mecanismo de actuación similar.

Bien es verdad que en ningún momento se han encontrado en nuestros datos ni en los de la literatura depósitos de complejos inmunes que demuestren taxativamente la participación de un mecanismo inmunológico, pero no deja de ser cierto que ésto lo único que niega es la hipersensibilidad tipo III de Coombs y Gell, pero no otros mecanismos como el celular que es el que nosotros sugerimos. Tampoco se han encontrado, siempre, anticuerpos organoespecíficos o anticuerpos antiBLM (25 y 48), pero lo que sí es claro es que en los sujetos que reciben la BLM suceden alteraciones no bien conocidas que transforman las reacciones inmunológicas que poseían previamente (A. A. N., Factor reumatoide, Fenómeno LE, etc.) (143 y 144) y que pensamos están relacionadas con el contexto de "inmunopatía" inducida por BLM y responsable de las alteraciones iatrogénicas más avanzadas (103).

En resumen, nosotros pensamos que la actuación de la BLM a nivel pulmonar produce una lesión de poca importancia por actuación directa sobre la pared vascular y sobre el parénquima pulmonar en general que es responsable de los pequeños cambios funcionales que se observan en todos los pacientes tratados con la droga. Sin embargo, sobre estas pequeñas alteraciones si el tiempo es suficiente y la dosis repetida, se produce una alveolitis fibrosante difusa de mecanismo inmunológico (mediada por células) que va a dar como resultado final una situación de fibrosis pulmonar difusa (114) similar al estado terminal evolutivo de la neumonía intersticial descamativa (42, 85 y 96).

LESIONES PULMONARES POR DROGAS

—ETIOPATOGENIA—



Estadios crónicos finales de daño y reparación del pulmón

Figura 57

En un intento especulativo de explicación del daño pulmonar producido por agentes externos nos vamos a referir al esquema de la Figura 57. Siguiendo a Kilburn (58), consideramos la fibrosis y el enfisema como los dos únicos estados finales de daño y reparación del pulmón. Tanto en el caso de las drogas que producen enfisema - como el paraquat o el cadmio (114); como en todas aquellas que van a inducir fibrosis pulmonar, como en el caso de la BLM, el mecanismo primario de actuación es mediante la producción de una vasculitis de mecanismo directo y/o alérgico que por motivos no bien delimitados va a seguir por un camino diferente :

- 1º) o bien mediante destrucción vascular y parenquimatosa hacia - el enfisema o
- 2º) mediante la descamación alveolar y proliferación fibroblástica hacia la alveolitis fibrosante difusa o fibrosis pulmonar.

CAPITULO 6

CONCLUSIONES

Nuestro estudio en humanos y animales (ratas) nos permite sistematizar los siguientes puntos según criterios funcionales y morfológicos :

A. - Desde el punto de vista Funcional :

- 1) Consideramos imprescindible la vigilancia de la función pulmonar en enfermos tratados con BLM sea cual fuere el proceso tumoral de origen.
- 2) El test de Difusión (D_L CO, single breath) es el método más fidedigno de seguimiento de estos pacientes.
- 3) Las alteraciones pulmonares no son, siempre, dosis dependientes.
- 4) No creemos que una historia respiratoria previa, aumente la toxicidad pulmonar de la BLM.
- 5) La BLM a las dosis utilizadas produce una elevación de la calcemia en las ratas no expuestas a luz solar que es dependiente de la presencia de dosis.

B. - Desde el punto de vista Morfológico :

- 6) No hemos encontrado en nuestros animales lesiones extrapulmonares, ni estructurales ni bioquímicas.
- 7) La lesión morfológica en ratas es la producción de una angitis - morfológicamente similar a las vasculitis alérgicas sin depósitos de inmunocomplejos, que en un estadio posterior induce a descamación alveolar y desestructuración por edema.

- 8) En humanos hemos observado una alveolitis fibrosante.
- 9) El empleo de Betametaxona minimizó, en nuestras series de animales, las lesiones inducidas por BLM.

Como hipótesis derivada de nuestros hallazgos, concluimos que la BLM induce por mecanismos inmunológicos de hipersensibilidad encuadrables dentro de los tipos I y IV de Gell y Coombs, reacciones sistémicas de anafilaxia y reacciones pulmonares mediadas por células que van a desembocar en una - alveolitis fibrosante difusa.

CAPITULO 7

BIBLIOGRAFIA

1. - ADAMSON, I.Y.R. Pulmonary toxicity of bleomycin. Environm. Hlth. Perspect. 1976. 16. 119.
2. - ADAMSON, I.Y.R. y BOWDEN, D.H. The pathogenesis of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Am. J. Pathol. 1974. 77. 185.
3. - ASO, Y., YONEDA, K., y KIKKAWA, Y. Bleomycin induced pulmonary fibrosis : morfologic and biochemical study. Amer. Rev. Resp. Dis. (USA). 1975. 111. 904.
4. - ASO, Y., YONEDA, K., y KIKKAWA, Y. Morphologic and biochemical study of pulmonary changes induced by Bleomycin in mice. Lab. Invest. 1976. 35. 558.
5. - AUBIN-HESSE, H., LESOBRE, R., y LEGRAND, M. Traitement du cancer bronchique epidermoide par la Bleomycine (25 observations) Poumon Coeur. 1973. 29. 727.
6. - AUSEON, J.C. Clinical use of bleomycin : Two cases reports and review of toxicity. J. Am. Osteopath. Assoc. 1974. 73. 811.
7. - BÄCK, O., LUNDGREN, R. y WIMAN, L.G. Nitrofurantoin-induced pulmonary fibrosis and lupus syndrome. Lancet 1974. 1. 930.
8. - BARRANCO, S.C., y HUMPHREY, R.M. The relevance of in vitro survival and cell cycle kinetics data to the clinical use of Bleomycin. Gam. Monogr. Cancer. Res. 1976. 19. 83.

9. - BEDROSSIAN, C.W.M., GREENBERG, S.D., YAWN, D.H., y O'NEAL, R.M. Experimental induced bleomycin pulmonary toxicity. Amer. Rev. Resp. Dis. 1976. 113 (II). 106.
10. - BEDROSSIAN, C.W., LUNA, M.A., MACKAY, B. y LICHTIGER, B. Ultraestructure of Pulmonary Bleomycin Toxicity. Cancer. 1973. 32. 44.
11. - BENTZEL, C.J., CARBONE, P.P. y ROSEMBERG, L. The effect of prednisone on calcium metabolism a CA4 kinetics in patients with multiply myeloma and hyper calcemia. J. Clin.Invest. 1964. 43. 2143.
12. - BERDAL, P. Head and neck carcinoma : Treatment with Bleomycin and radiation. Gann. Monogr. Cancer Ress. 1976. 19. 133.
13. - BLUM, R.H., CARTER, S.K. y AGRE, K. A clinical review of Bleomycin - A new antineoplastic agent. Cancer. 1973. 31. 903.
14. - BONE, R.C., WOLFE, J., SOBONYA, R.E., KERBY, G.R., - STECHSHULTE, D., RUTH, W.E. y WELCH, M. Descamative interstitial pneumonia following chronic Nitrofurantoin therapy. Chest. 1976. 69 supp. 296.
15. - BUCKNER, C.D. Toxicologic and marrow transplantation studies in rhesus monkeys given dimetil-myleran. Exp. Hematol. 1975. 3. 257.
16. - CALABRESI, P. y PARKS, R.E. (Jr.). Bleomycins in the farmacological basis of therapeutics. Goodman and Gilman Editors. 5th Ed. - New York. 1975. 62. 1290.

17. - CARTER, S.K. A survey of Bleomycin in multiple drug therapy in -
the United States. Gann. Monogr. Cancer. Res. 1976. 19. 285.
18. - CHABNER, B.A., MYERS, C.E., COLEMAN, C.N. y JOHNS, D.G.
The clinical pharmacology of antineoplastic agents (II). New England
J. Med. 1975. 292. 1159.
19. - CHOPPIN, J. Histoenzymologic and ultrastructural study of the ac-
tion of Bleomycin on the normal hepatocyte. Ann. Pharm. Fr. 1974.
32. 669.
20. - CHRISTOV, I. y DONCHEV, T. The results of Bleomycin treatment
in 90 patients with malignant disease. Chemotherapy Proc. 9th INT.
Cong. Chemother. Vol. 8. Cancer Chemotherapy. 1976. Vol. 2. 421.
21. - CLINICAL SCREENING CO-OPERATIVE GROUP OF THE EUROPEAN
ORGANIZATION FOR RESEARCH ON THE TREATMENT OF CANCER.
Study of the Clinical efficiency of Bleomycin in Human Cancer. Brit.
Med. J. 1970. 2. 643.
22. - COHEN, F.B., LIPPMAN, A.J., CUSTODIO, M.C. y DECTER, J.A.
New antineoplastic drugs and their proper use. Med. clin. N. Amer.
1976. 60/5. 959.
23. - COHEN, A.M., PHILIPS, F.S., y STERNBERG, S.S. Studies on
the cytotoxicity of Bleomycin in the small intestine of the mouse. Can-
cer Res. 1972. 32. 1293.
24. - COHEN, I., MOSHER, M., y O'KEEFLE, F. Cutaneous toxicity of -
Bleomycin therapy. Arch. Dermatol. 1973. 107. 553.

25. - COLE, P. Respiratory diseases in Immunology in Medicine Ed. by Holborow, Reaves. Academic Press. Inc. London 1977. chap. 21.
26. - COTES, J. Lung Function. Ed. by Blackwell Scientific Publications London 1968.
27. - COULLAUD, D. y LENK, S. Modification du transfert pulmonaire de l'oxide de carbone au cours du traitement par la Bleomycine, chez 58 malades. Arch. Med. Ovest. 1977. 9. 231.
28. - DASKAL, Y., GYORKEY, F., GYORKEY, P. y BUSCH, H. Ultra-estructural study of pulmonary Bleomycin toxicity. Cancer Res. 1976. 36. 1267.
29. - DE VITA, V., SERPICK, A. y CARBONE, P. Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin disease. Ann. Int. Med. - 1970. 73. 881.
30. - DLUGI, A.M., ROBIE, K.M. y MITCHELL, M.S. Failure of Bleomycin to affect humoral cell-mediated immunity in the mouse. Cancer Res. 1974. 34. 2504.
31. - DOHNER, V.A., WARD, H.P. y STANDORD, R.E. Alveolitis during Procarbazine, Vincristine and Cyclophosphamide Therapy. Chest - 1972. 62. 636.
32. - EDITORIAL. Drug reactions and the lung. Brit. Med. J. 1976. 2. 1030
33. - EDWARDS, G.A. Cataracts in Bleomycin treated rats. Am. J. Ophthalmology 1975. 80. 538.

- 34.- EINHORN, L., KRAUSE, M., HORNBACK, N. y FURNAS, B. Enhanced pulmonary toxicity with Bleomycin and radiotherapy in oat cell lung cancer. *Cancer* 1976. 37. 2414.
- 35.- EINSTEIN, A.B. (Jr.). Effect of dimethyl-myleran on cell mediated immunity to a tumor allograft. *J. Natl. Cancer Inst.* 1975. 55. 1143.
- 36.- FLANDRE, O., BEAULATON, T.S., DAMON, M. y ALLIEU, M. - Etude experimentale de la production et de la prevention des pneumopathies au cours des traitements par la bleomycine. *Therapie.* 1972. 27. 67.
- 37.- FLEISCHMAN, R.W., BAKER, J.R., THOMPSON, G.R., SCHAEPPPI, U.H., ILLIEWSKI, V.R., COONEY, D.A. y DAVIS, R.D. - Bleomycin Induced Interstitial pneumonia in dogs. *Thorax.* 1971. 26. 675
- 38.- FOLKE, E. Combined treatment with bleomycin in penile carcinomas. *Gann. Monogr. Cancer Res.* 1976. 19. 231.
- 39.- FOLKE, E. Treatment of Oesophagus carcinomen in Africa. *Gann. - Monogr. Cancer Res.* 1976. 19. 187.
- 40.- FRISON-ALVAREZ, J.C. y RUBIES-PRAT, J. Fibrosis y glanulomatosis pulmonares inducidas por fármacos. *Med. Clin.* 1974. 62. 8.
- 41.- GERCOVICH, F.G., LUNA, M.A., LICHTIGER, B. y DREWINKO, B. Neumonitis asociada a Bleomicina. Estudio Retrospectivo clínico patológico. *Medicina (Buenos Aires).* 1974. 34. 444.
- 42.- GYORKEY, F., MIN, K.W., DASKAL, I. y GYORKEY, P. Fine - structural studies of diffuse interstitial pulmonary fibrosis. *Lab. In-*

vest. (USA). 1975. 32. 448.

- 43. - HASS, C.D., COLTMAN, C.A. (Jr.), GOTTLIEB, J.A., HAUT, A., LUCE, J.K., TALLEY, R.W., SAMAL, B., WILSON, H. E., y — HOOGSTRATEN, B. Phase II evaluation of bleomycin. Cancer. 1976. 38, 8.
- 44. - HAYNES, R.D. (Jr.) y LARNER, J. Adrenocortical steroids and — their synthetic analogs.in the farmacologic basis of therapeutics. Goodman y Gilman Editors. 5th. Ed. New York 1975. 70. 1491.
- 45. - HEARD, B.E. Pathology of interstitial lung diseases with particular reference to terminology classification and trephine lung biopsy. Chest 1976. 69. 252.
- 46. - HEARD, B.E. y COOKE, R.E. Busulphan Lung. Thorax, 1968. 23. 187.
- 47. - HENRY, J.B. Clinical chemistry in Clinical Diagnosis by laboratory methods. 15th. Ed. Philadelphia Pa. W.B. Saunders Co. 1974.
- 48. - HOLOYE, P.Y., LUNA, M.A., BRUCE, McKay y BEDROSSIAN, C. W.M. Bleomycin hipersensitivity Pneumonitis. Ann. Int. Med. 1978. 88, 47.
- 49. - HOMASSON, J.P., BOISSINOT, E., ROULLIER, A. y MOLINE, J. Constance de l'alteration du transfert alvéolo-capilaire chez l'homme par un agent anti-tumoral (bleomycin). Nouv. Press. Med., 1974. 3. 1103.

- 50. - HOROWITZ, A.L., FRIEDMAN, M., SMITH, J., YAGODA, A., LA MONTE, C., y WATSON, R.C. The Pulmonary Changes of Bleomycin Toxicity. Radiology 1973. 106. 65.
- 51. - HURD, E.R. Drugs affecting the immune response, in Immunology in Medicine. Academic Press Inc. London. 1977. 1077.
- 52. - ICHIKAWA, T. Studies of bleomycin : Discovery of its clinical effect combination treatment with bleomycin and radiotherapy, side effects and long term survival. Gann. Monogr. Cancer. Res. 1976, 19, 99.
- 53. - IKEDA, S., HAMAMATSU, T., y ISHIHARA, K. Effect of Bleomycin on skin cancer. Gann. Monogr. Cancer Res. 1976. 19. 235.
- 54. - ISHIZUKA, M., TAKAYAMA, H., TAKEUCHI, T. y UMEZAWA, H. Activity and toxicity of Bleomycin. J. Antibiot. (Ser.A.) 1967, 20. 15.
- 55. - ISHIZUKA, M., TAKAYAMA, H., TAKEUCHI, T., y UMEZAWA, H. Studies on antitumor activity, antimicrobial activity and toxicity of - phleomycin. J. Antibiot. (ser.A). 1966. 19. 260.
- 56. - JONES, A.W. Bleomycin lung damage : The pathology and nature of the lesion. Brit. J. Dist. Chest. 1978. 72. 321.
- 57. - KIDA, K. y KAJIYAMA, K. Electron microscopial studies of pulmonary fibrosis in mice induced with Bleomycin (Japanese). Connect. - Tissue (Jap.). 1975. 7. 45.
- 58. - KILBURN, K.H. New dues for the enphysemas. Amer. J. Med. 1975. 58. 591.

- 59. - KORY, R.C., CALLAHAN, R., BOREN, H.G. y SYNER, J.C. The V.A.A.C. study of Pulmonary Function. I. Clinical spirometry in normal men. Am. J. Med. 1961. 30. 243.
- 60. - KRANE, S.M. y POTTS, J.T. (Jr.). Skeletal remodeling and factors influencing bone and bone mineral metabolism, in Harrison's Principles of Internal Medicine. McGraw-Hill Kogabusha. Tokyo. 8th. Edition - 1977. 352. 2007.
- 61. - KROUS, H.F. y HAMPLIN, W.B. Pulmonary toxicity due to Bleomycin. Report of case Arch. Pathol. 1973. 95. 407.
- 62. - LACCOUREYE, H. y HAGUET, J.F. Bleomycin as a complement in the treatment of pharynx and larynx carcinomas : A three years assessment. Gann. Monogr. Cancer Res. 1976. 19. 171.
- 63. - LANT, A.F. Renal excretion and nephrotoxicity of drugs in Renal Disease. Ed. by Sir Douglas Black. Blackwell Scientific Publication - Oxford. 3rd. Edition 1972. 21. 591.
- 64. - LEHANE, D.E. The effects of Bleomycin on immunocompetence in man. Cancer Res. 1975. 35. 2724.
- 65. - LIEBOW, A.A. Pulmonary angitis and granulomatosis. Am. Rev. - Resp. Dis. 1973. 108. 1.
- 66. - LIN, M.S. Bleomycin as a 99 mtc carrier intumor visualisation. J. - Nucl. Med. 1974. 15. 338.
- 67. - LIPPMANN, M. Reacciones pulmonares a drogas. Med. Clin. North. Am. 1977. 61. 1351.

- 68. - LITLER, W.A., KAY, J.M., HASLETON, P.S. y HEATH, D.
Busulphan Lung. Thorax, 1969. 24. 639.
- 69. - LUNA, M.A., BEDROSSIAN, C.W., LICHTIGER, B. y SALEM, P.A.
Interstitial Pneumonitis associated with Bleomycin Therapy. Am. J.
Clin. Pathol. 1972. 58. 501.
- 70. - LUNDGREN, R., BACK, O. y WIMAN, L.G. Pulmonary lesions and
autoimmune reactions after long term nitrofurantoin treatment. Scan.
J. Resp. Dis. 1975. 56. 208.
- 71. - MAEDA, K., KOSAK, H., YAGISHITA, K. y UMEZAWA, H. A new
antibiotic, phleomycin. J. Antibiot. (Ser. A). 1956. 9. 82.
- 72. - MATHE, G. Prevention of chemotherapy complications : time, toxic-
ity, pharmacokinetic, pharmacodynamic and logistic factors. Recent. -
Results. Cancer Des. 1974. 49. 124.
- 73. - MAURO, F. Effects of antineoplastic drugs on plateau-phase cultures
of mamlian cells. II. Bleomycin and hidroxy urea. J. Natl. Cancer -
Inst. 1974. 52. 715.
- 74. - McCULLOUGH, B., COLLINS, J.F. y JOHANSON, W.G. (Jr.). -
Bleomycin induced pulmonary fibrosis in baboons. Clin. Res. 1977. -
25. 38 A.
- 75. MEDICAL RESEARCH COUNCIL WORKING PARTY ON BLEOMYCIN.
Bleomycin in advanced squamous cell carcinoma : a random controlled
trial. Brit. Med. J. 1976. I. 188.

- 76. - MORET. Exploration using labelled bleomycin in dermatology. Its - value and limits in the diagnosis of cutaneous epitheliomas, malignant melanomas and their metastasis. *Nouv. Press. Med.* 1974. 3. 193.
- 77. - MOSHER, M.B., DE CONTI, R.C. y BERTINO, J.R. Bleomycin Therapy in Advanced Hodgkin's Disease and Epidermoid Cancers. *Cancer* 1972. 30. 56.
- 78. - MÜLLER, W.E.G. y ZAHN, R.K. Bleomycin : mode of action on - DNA. *Gann. Monogr. cancer. Res.* 1976. 19. 51.
- 79. - MÜLLER, W.E.G., YAMAZAKI, Z., ZÖLLNER, J.E. y ZAHN, R. K. Action of bleomycin on programmed synthesis. Influence on DNA and RNA nucleases. *FEBS. Lett.* 1973. 31. 217.
- 80. - MURRAY, J.F. Diffuse infiltrative diseases of the lung. in *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill Kogakusha. Tokyo. 8th. Edition. 1977. 260. 1369.
- 81. - NABEYA, K. The use of bleomycin in the treatment of carcinoma of esophagus. *Gann. Monogr. Cancer. Res.* 1976. 19. 177.
- 82. - NAGAI, K., SUZUKI, H., TANAKA, N. y UMEZAWA, H. Decrease of melting temperature and single strand scission of DNA by bleomycin in the presence of 2-mercapto ethanol. *J. Antibiot.* 1969. 22. 569.
- 83. - NAGAI, K., SUZUKI, H., TANAKA, N. y UMEZAWA, H. Decrease of melting temperature and single strand scission of DNA by bleomycin in the presence of hydrogen peroxide. *J. Antibiot.* 1969. 22. 624.

- 84. - NESBIT, M., KRIVIT, W., HEYN, R. y SHARP, H. Acute and chronic effects of methotrexate on hepatic pulmonary and skeletal systems. *Cancer* 1976. 37/2 sup. 1048.
- 85. - NEWHOUSE, M., SANCHIS, J. y BIENENSTOCK, J. Lung defense mechanisms. (two parts). *New Eng. J. Med.* 1976. 295. 990 y 1045.
- 86. - NORDIN, B.E.C., HORSMAN, A. y AARON, J. Diagnostic procedures, in Calcium, Phosphate, and Magnesium Metabolism. Edited by Nordin, Churchill Livingstone. New York. 1976. 471.
- 87. - NOVEL, J.P. Radioactive metal-bleomycin complex for the diagnosis of cancer. *Gann. Monogr. Cancer Res.* 1976. 19. 301.
- 88. - NOVEL, S.P., RENAULT, H. ROBERT, J., JEANNE, C. y WICART L. La Bleomycine marquee au Co_{57} interet dans le diagnostic des tumeurs malignes et de leur extension. *Nour. Press. Med.* 1972. 1. 95.
- 89. - OHASHI, S. Bleomycin, from pathological view point. 6th Congress of Japan Society for Cancer Therapy. 1968 October.
- 90. - OHNUMA, T., HOLLAND, J.F., MASUDA, H. Microbiological assay of bleomycin : inactivation, tissue distribution and clearance. *Cancer* 1974. 33. 1230.
- 91. - OKA, S. SATO, K., NAKAY, Y., KURITA, K., HASHIMOTO, K. y OSHIBE, M. Treatment of Lung Cancer with Bleomycin. *Science Reports of the Research Institute (Tohoku Univ.)*. 1969. 16. 30.

92. - OKA, S. y SATO, K. Treatment of pulmonary cancer with Bleomycin
Med. Hygiene. 1970. 28. 1206.
93. - OKA, S., SHIRAISHI, K., ISAWA, T., GOTO, Y. y YASUDA, T.
Pulmonary diffusing capacity and its evaluation by scintillation scanning
of the lungs in lung cancer. Am. Rev. Resp. Dis. 1967. 95. 239.
94. - O'NEILL, T.J., KARDINAL, C.G. y TIERNEY, L.M. Reversible -
interstitial Pneumonitis associated with low dose Bleomycin. Chest. -
1975. 68. 265.
95. - PASCUAL, R.S., MOSHER, M.B., SIKAND, R.S., DE CONTI, R.
C. y BOUHUYS, A. Effects of Bleomycin on pulmonary function in -
man. Amer. Rev. Respir. Dis. 1973. 108. 211.
96. - PATCHESKY, A.S., ISRAEL, H.L., HOCH, W.S. y GORDON, G.
Desquamative interstitial pneumonia : relationship to interstitial fibro-
sis. Thorax. 1973. 28. 680.
97. - PATEL, A.R., SHAN, P.C. y RHEF, H.L. Cyclophosphamide the-
rapy and interstitial pulmonary fibrosis. Cancer 1976. 38. 1542.
98. - PEREZ-GUERRA, F., HARKLEROAD, L.E., WALSH, R. E. y -
CONSTANCE, I. J. J. Acute Bleomycin Lung. Am. Rev. Respir. Dis.
1972. 106. 909.
99. - PERLIA, C.P., GUBISCH, N.J., WOLTER, J., EDELBERG, D., -
DEDERICH, M.M. y TAYLOR, S.G. (III). Mithramycin treatment of -
hypercalcemie. Cancer. 1970. 25. 389.

100. - PICKRELL, J.A., HARRIS, D.V., MAUDERLY, J.L., y HAHN, F.
F. Altered collagen metabolism in radiation-induced interstitial pulmonary fibrosis. *Chest*. 1976. 69. 311.
101. - POTTS, J.T. (Jr.), y DEFTOS, L.J. Parathyroid hormone, Calcitonin, Vitamin D, Bone and Bone mineral metabolism in Diseases of - Metabolism Bondy and Rosenberg Eds. Saunders Co. Philadelphia. - 1974. 1225.
102. - POVILLART, P. y MATHE, G. Bleomycin in rational combinations - of chemotherapy. *Gann. Monogr. Cancer, Res.* 1976. 19. 279.
103. - REEVES, W.G. y HOLBOROW, E.J. General introductions, in *Immunology in Medicine*. Academic Press Inc. London 1977. 1.
104. - RICHMAN, S.D. 67-Ga accumulation in pulmonary lesions associated with Bleomycin toxicity. *Cancer* 1975. 36. 1966.
105. - ROES, D. Nitrofurantoin pulmonary reactions. *J. Kansas Med. Soc.* 1975. 76. 163.
106. - ROSAN, R.C. A new diagnostic system for fibrosing alveolitis (interstitial pulmonitis) based on the functional anatomy of the lung. *Chest* 1976. 69. 253.
107. - RUDDERS, R.A. Drug Induced Pulmonary Disease. Bleomycin Pulmonary toxicity. *Ann. Int. Med.* 1973. 78. 618.
108. - RUDDERS, R.A. y HENSLEY, G. Bleomycin pulmonary toxicity. - *Chest*. 1973. 63. 627.

109. - SAMUELS, M.L., JOHNSON, D.E. y HOLOYE, P.Y. Bleomycin - combination chemotherapy programs in stage-3 testicular neoplasia. Result in 101 patients. Gann. Monogr. Cancer Res. 1976. 19. 269.
110. - SAMUELS, M.L., JOHNSON, D.E. y HOLOYE, P.Y. Continuous - intravenous Bleomycin therapy with Vinblastine in stage III testicular neoplasia. Cancer Chemother. Re. 1975. 59. 563.
111. - SANTA, V. y KRISHNAMURTHIS, S. The combined therapy of oral cancer. Gann. Monogr. Cancer Res. 1976. 19. 159.
112. - SAWAS, C., SAMARA, V. y ANEZYRIS, N. Efficacite comparee - des radiographies et scintographies pulmonaires dans la detection - precoce des effets toxiques du traitements par la Bleomycine. Etude experimentale. J. Radiol. Electrol. 1975. 56. 153.
113. - SCADDING, J.G. Fibrosing alveolitis. Br. Med.J. 1964. 2. 686.
114. - SCADDING, J.G. Diffuse pulmonary alveolar fibrosis. Thorax. 1974 29. 271.
115. - SCADDING, J.G. y HINSON, K.F.W. Diffuse fibrosing alveolitis - (diffuse interstitial fibrosis of the lungs). Thorax 1967. 22. 291.
116. - SCHAEPPPI, U., PHEIAN, R., STADNICKI, S.W., FLEISCHMAN, R.W., HEYMAN, J.A., ILLEVSKY, V. y REDDING, R.A. Pulmonary fibrosis following multiple treatment with Bleomycin (NSC 125066) in dogs. Cancer Chemother. Rep. 1974. 58. 301.

117. - SHERLOCK, S. Drugs and the liver, in Diseases of the liver and -
biliary Sistem. Blackwell Scientific Publications. Oxford 4th Edition
1971. Chap. 13. 360, 377.
118. - SHIMADA, M., y TERASHIMA, B. Prophylactic combined treatment
by glutathione inhalation in preventing bleomycin induced pulmonary
fibrosis. J. JAP. SOC. CANCER. Ther. 1973. 11th congres. 55.
119. - SNEDECOR, G.W. y COCHRAN, W.G. Statistical methods. 6th Edi
tion. Ames, Iowa State University Press. 1967.
120. - SNIDER, G.L., HAYES, J.A., KORTHY, A.L. y LEWIS, G.F. -
Centrilobular enphysema experimentally induced by cadmium chloride
aerosol. Am. Rev. Respir. Dis. 1973. 108. 40.
121. - SOBLE, A.R. y PERRY, H. Fatal radiation pneumonia following sub
clinical busulfan injury. Am. J. Roentgenol. 1977. 18. 15.
122. - SOSTMAN, H.D., MATTHAY, R.A. y PUTMAN, C.E. Citotoxic -
drug induced lung disease. Amer. J. Med. 1977. 62. 608.
123. - SPECTOR, J. Pulmonary fibrosis due to chemicals and particles. Δ
Am. N.Y. Acad. Sci. 1974. 221. 309.
124. - SUZUKI, M., WATANABE, M. y SATO, A. Effect of Bleomycin on -
Gynecological Carcinoma. Gann. Monogr. Cancer Res. 1976. 19. 221.
125. - SUZUKI, Y., MIKAYE, H. y SAKAY, M. Bleomycin treatment of maxil
lary cancer and the 5 year survival. Gann. Monogr. Cancer. Res. 1976.
19. 151.

- 126.- SVANBERG, L.E. Bleomycin and lung cancer. Gann. Monogr. Cancer Res. 1976. 19. 193.
- 127.- TAKEUCHI, K. Effect of bleomycin in brain tumors. Gann. Monogr. Cancer. Res. 1976. 19. 117.
- 128.- TANAKA, N., YAMAGUCHI, H. y UMEZAWA, H. Mechanism of actions of phleomycin. I. Selective inhibition of DNA synthesis in E. - Coli and Hela cells. J. Antibiot. (Ser. A). 1963. 16. 86.
- 129.- TOBIN, W. y SANDLER, G.S. Neurofisiological alterations induced by vincristine (NSC. 67574). Cancer Chemother. Rep. 1968. 52. 519.
- 130.- UMEZAWA, H. Bleomycin : Discovery, chemistry and action. Gann. Monogr. Cancer. Res. 1976. 19. 3.
- 131.- UMEZAWA, H. Chemistry and mechanism of action of bleomycin. — Fed. Proc. 1974. 33. 2296.
- 132.- UMEZAWA, H. Studies on bleomycin : chemistry and the biological - action. Biomedicine. 1973. 18. 459.
- 133.- UMEZAWA, H., HORI, M., ISHIZUKA, M. y TAKEUCHI, J. Studies on antitumor effect on Phleomycin. J. Antibiot. (Ser.A). 1962. 15. - 274.
- 134.- UMEZAWA, H., ISHIZUKA, M., MAEDA, K. y TAKEUCHI, T. Studies on Bleomycin. Cancer 1967. 20. 891.

135. - UMEZAWA, H., MAEDA, K., TAKEUCHI, T. y OKAMI, Y. New -
antibiotics, Bleomycin A and B. J. Antibiot (Ser. A). 1966. 19. 200.
136. - UMEZAWA, H., SUHARA, Y., TAKITA, T. y MAEDA, K. Purifica-
tion of bleomycin. J. Antibiot. (Ser. A). 1966. 19. 210.
137. - UTSINGER, P.D. y YOUNT, W.J. Allopurinol hipersensitivity. Gra-
nular deposition of IgM at the dermal-epidermal function, Am. J. Med.
1976. 61. 287.
138. - VANCIL, M.E. Interstitial pneumonia after prolonged treatment -
with ciclophosphamide. Am. Rev. Respir. Dis. 1974. 109. 687.
139. - WASSERMAN, R.H. The Vitamin D dependent calcium binding protein,
in the Fat soluble Vitamins. De Luca and Suttie, eds. Madison Univer-
sity of W. J. consis Press. 1969. 21.
140. - WEINSTEIN, L. Kanamycin in the Farmacologic basis of therapeutics
Goodman y Gilman Editors. 5th. ed. New York 1975. 58. 1177.
141. - WHITCOMB, M.E. Drug-Induced Lung Disease. Chest 1973. 63. 418.
142. - WILLOUGHBY, W.F., BARBARAS, J.E. y WHEELIS, R. Immunolo-
gical mechanisms in experimental interstitial Pneumonitis. Chest, 1976.
69. 290.
143. - YAGODA, A. y KRAKOFF, I.H. Observations on the use of bleomycin
in the treatment of malignant lymphoma in the USA. Gann. Monogr. Can-
cer. Res. 1976. 19. 255.

144. - YAGODA, A., MUKHERJI, B., YOUNG, C., ETCUBANAS, E., -
LAMONTE, C., SMITH, J.R., TAN, C. y KRAKOFF, I.H. Bleomycin, an antitumor antibiotic. Clinical experience in 274 patients. Ann. Int. Med. 1972. 77. 861.
145. - YAMAGUCHI, Y., KATSUKI, H. y HANZAWA, S. Clinical and Pathological study of "Bleomycin" to lung Cancer. 6th Congress of Japan Society for Cancer Therapy. 1968 October.

